



**HAL**  
open science

# Évaluation des performances microbiologiques et de l'impact pré-clinique potentiel de la PCR multiplexe ePlex-BCID® (GenMark Diagnostics) pour le diagnostic rapide des bactériémies et fongémies: Hemofast I

Sabrina Bryant

► **To cite this version:**

Sabrina Bryant. Évaluation des performances microbiologiques et de l'impact pré-clinique potentiel de la PCR multiplexe ePlex-BCID® (GenMark Diagnostics) pour le diagnostic rapide des bactériémies et fongémies: Hemofast I. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02481807

**HAL Id: dumas-02481807**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02481807>**

Submitted on 17 Feb 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4  
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

Année 2019

EVALUATION DES PERFORMANCES MICROBIOLOGIQUES ET DE  
L'IMPACT CLINIQUE POTENTIEL DE LA PCR MULTIPLEXE EPLEX-  
BCID® (GENMARK DIAGNOSTICS) POUR LE DIAGNOSTIC RAPIDE  
DES BACTERIEMIES ET FONGEMIES

HEMOFAST I

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN MÉDECINE  
DIPLOME D'ÉTAT

Sabrina BRYANT

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE  
Le 22/10/2019

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury : M. le Professeur Olivier EPAULARD

Membres :

M. le Docteur Yvan CASPAR, directeur de thèse

Mme. La Professeure Muriel CORNET

Mme. La Docteure Caroline LANDELLE

Mme. La Docteure Patricia PAVESE

*L'UFR de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*



Doyen de la Faculté : **Pr. Patrice MORAND**

Année 2018-2019

**ENSEIGNANTS DE L'UFR DE MEDECINE**

<b>CORPS</b>	<b>NOM-PRENOM</b>	<b>Discipline universitaire</b>
PU-PH	<b>ALBALADEJO Pierre</b>	Anesthésiologie réanimation
PU-PH	<b>APEL Florent</b>	Ophtalmologie
PU-PH	<b>ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine</b>	Chirurgie générale
PU-PH	<b>BAILLET Athan</b>	Rhumatologie
PU-PH	<b>BARONE-ROCHETTE Gilles</b>	Cardiologie
PU-PH	<b>BAYAT Sam</b>	Physiologie
PU-PH	<b>BENHAMOU Pierre Yves</b>	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	<b>BERGER François</b>	Biologie cellulaire
MCU-PH	<b>BIDART-COUTTON Marie</b>	Biologie cellulaire
MCU-PH	<b>BOISSET Sandrine</b>	Agents infectieux
PU-PH	<b>BOLLA Michel</b>	Cancérologie-Radiothérapie
PU-PH	<b>BONAZ Bruno</b>	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	<b>BONNETERRE Vincent</b>	Médecine et santé au travail
PU-PH	<b>BOREL Anne-Laure</b>	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	<b>BOSSON Jean-Luc</b>	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	<b>BOTTARI Serge</b>	Biologie cellulaire
PU-PH	<b>BOUGEROL Thierry</b>	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	<b>BOUILLET Laurence</b>	Médecine interne
PU-PH	<b>BOUZAT Pierre</b>	Réanimation
PU-PH	<b>BRAMBILLA Christian</b>	Pneumologie
PU-PH	<b>BRAMBILLA Elisabeth</b>	Anatomie et de Pathologie Cytologiques
MCU-PH	<b>BRENIER-PINCHART Marie Pierre</b>	Parasitologie et mycologie
PU-PH	<b>BRICAULT Ivan</b>	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	<b>BRICHON Pierre-Yves</b>	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
MCU-PH	<b>BRIOT Raphaël</b>	Thérapeutique, médecine d'urgence
MCU-PH	<b>BROUILLET Sophie</b>	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	<b>CAHN Jean-Yves</b>	Hématologie
PU-PH	<b>CANALI-SCHWEBEL Carole</b>	Réanimation médicale

PU-PH	<b>CARPENTIER Françoise</b>	<b>Thérapeutique, médecine d'urgence</b>
PU-PH	<b>CARPENTIER Patrick</b>	<b>Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire</b>
PU-PH	<b>CESBRON Jean-Yves</b>	<b>Immunologie</b>
PU-PH	<b>CHABARDES Stephan</b>	<b>Neurochirurgie</b>
PU-PH	<b>CHABRE Olivier</b>	<b>Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques</b>
PU-PH	<b>CHAFFANJON Philippe</b>	<b>Anatomie</b>
PU-PH	<b>CHARLES Julie</b>	<b>Dermatologie</b>
PU-PH	<b>CHAVANON Olivier</b>	<b>Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire</b>
PU-PH	<b>CHIQUET Christophe</b>	<b>Ophthalmologie</b>
PU-PH	<b>CHIRICA Mircea</b>	<b>Chirurgie générale</b>
PU-PH	<b>CINQUIN Philippe</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
MCU-PH	<b>CLAVARINO Giovanna</b>	<b>Immunologie</b>
PU-PH	<b>COHEN Olivier</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>COURVOISIER Aurélien</b>	<b>Chirurgie infantile</b>
PU-PH	<b>COUTTON Charles</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>COUTURIER Pascal</b>	<b>Gériatrie et biologie du vieillissement</b>
PU-PH	<b>CRACOWSKI Jean-Luc</b>	<b>Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique</b>
PU-PH	<b>CURE Hervé</b>	<b>Oncologie</b>
PU-PH	<b>DEBATY Guillaume</b>	<b>Médecine d'Urgence</b>
PU-PH	<b>DEBILLON Thierry</b>	<b>Pédiatrie</b>
PU-PH	<b>DECAENS Thomas</b>	<b>Gastro-entérologie, Hépatologie</b>
PU-PH	<b>DEMATTEIS Maurice</b>	<b>Addictologie</b>
PU-PH	<b>DEMONGEOT Jacques</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
MCU-PH	<b>DERANSART Colin</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>DESCOTES Jean-Luc</b>	<b>Urologie</b>
PU-PH	<b>DETANTE Olivier</b>	<b>Neurologie</b>
MCU-PH	<b>DIETERICH Klaus</b>	<b>Génétique et procréation</b>
MCU-PH	<b>DOUTRELEAU Stéphane</b>	<b>Physiologie</b>
MCU-PH	<b>DUMESTRE-PERARD Chantal</b>	<b>Immunologie</b>
PU-PH	<b>EPAULARD Olivier</b>	<b>Maladies Infectieuses et Tropicales</b>
PU-PH	<b>ESTEVE François</b>	<b>Biophysique et médecine nucléaire</b>
MCU-PH	<b>EYSSERIC Hélène</b>	<b>Médecine légale et droit de la santé</b>
PU-PH	<b>FAGRET Daniel</b>	<b>Biophysique et médecine nucléaire</b>
PU-PH	<b>FAUCHERON Jean-Luc</b>	<b>Chirurgie générale</b>
MCU-PH	<b>FAURE Julien</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>FERRETTI Gilbert</b>	<b>Radiologie et imagerie médicale</b>
PU-PH	<b>FEUERSTEIN Claude</b>	<b>Physiologie</b>

PU-PH	<b>FONTAINE Éric</b>	<b>Nutrition</b>
PU-PH	<b>FRANCOIS Patrice</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
MCU-MG	<b>GABOREAU Yoann</b>	<b>Médecine Générale</b>
PU-PH	<b>GARBAN Frédéric</b>	<b>Hématologie, transfusion</b>
PU-PH	<b>GAUDIN Philippe</b>	<b>Rhumatologie</b>
PU-PH	<b>GAVAZZI Gaétan</b>	<b>Gériatrie et biologie du vieillissement</b>
PU-PH	<b>GAY Emmanuel</b>	<b>Neurochirurgie</b>
MCU-PH	<b>GILLOIS Pierre</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>GIOT Jean-Philippe</b>	<b>Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique</b>
MCU-PH	<b>GRAND Sylvie</b>	<b>Radiologie et imagerie médicale</b>
PU-PH	<b>GRIFFET Jacques</b>	<b>Chirurgie infantile</b>
MCU-PH	<b>GUZUN Rita</b>	<b>Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique</b>
PU-PH	<b>HAINAUT Pierre</b>	<b>Biochimie, biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>HALIMI Serge</b>	<b>Nutrition</b>
PU-PH	<b>HENNEBICQ Sylviane</b>	<b>Génétique et procréation</b>
PU-PH	<b>HOFFMANN Pascale</b>	<b>Gynécologie obstétrique</b>
PU-PH	<b>HOMMEL Marc</b>	<b>Neurologie</b>
PU-MG	<b>IMBERT Patrick</b>	<b>Médecine Générale</b>
PU-PH	<b>JOUK Pierre-Simon</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>JUVIN Robert</b>	<b>Rhumatologie</b>
PU-PH	<b>KAHANE Philippe</b>	<b>Physiologie</b>
MCU-PH	<b>KASTLER Adrian</b>	<b>Radiologie et imagerie médicale</b>
PU-PH	<b>KRAINIK Alexandre</b>	<b>Radiologie et imagerie médicale</b>
PU-PH	<b>LABARERE José</b>	<b>Epidémiologie ; Eco. de la Santé</b>
MCU-PH	<b>LABLANCHE Sandrine</b>	<b>Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques</b>
MCU-PH	<b>LANDELLE Caroline</b>	<b>Bactériologie - virologie</b>
MCU-PH	<b>LARDY Bernard</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
MCU - PH	<b>LE PISSART Audrey</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>LECCIA Marie-Thérèse</b>	<b>Dermato-vénérologie</b>
PU-PH	<b>LEROUX Dominique</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>LEROY Vincent</b>	<b>Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie</b>
PU-PH	<b>LETOUBLON Christian</b>	<b>Chirurgie digestive et viscérale</b>
PU-PH	<b>LEVY Patrick</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>LONG Jean-Alexandre</b>	<b>Urologie</b>
MCU-PH	<b>LUPO Julien</b>	<b>Virologie</b>
PU-PH	<b>MAGNE Jean-Luc</b>	<b>Chirurgie vasculaire</b>
MCU-PH	<b>MAIGNAN Maxime</b>	<b>Médecine d'urgence</b>

PU-PH	<b>MAITRE Anne</b>	<b>Médecine et santé au travail</b>
MCU-PH	<b>MALLARET Marie-Reine</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
PU-PH	<b>MALLION Jean-Michel</b>	<b>Cardiologie</b>
MCU-PH	<b>MARLU Raphaël</b>	<b>Hématologie, transfusion</b>
MCU-PH	<b>MAUBON Danièle</b>	<b>Parasitologie et mycologie</b>
PU-PH	<b>MAURIN Max</b>	<b>Bactériologie - virologie</b>
MCU-PH	<b>MC LEER Anne</b>	<b>Cytologie et histologie</b>
PU-PH	<b>MORAND Patrice</b>	<b>Bactériologie - virologie</b>
PU-PH	<b>MOREAU-GAUDRY Alexandre</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>MORO Elena</b>	<b>Neurologie</b>
PU-PH	<b>MORO-SIBILOT Denis</b>	<b>Pneumologie</b>
PU-PH	<b>MOUSSEAU Mireille</b>	<b>Cancérologie</b>
PU-PH	<b>MOUTET François</b>	<b>Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie</b>
MCU-PH	<b>PACLET Marie-Hélène</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>PALOMBI Olivier</b>	<b>Anatomie</b>
PU-PH	<b>PARK Sophie</b>	<b>Hémato - transfusion</b>
PU-PH	<b>PASSAGGIA Jean-Guy</b>	<b>Anatomie</b>
PU-PH	<b>PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François</b>	<b>Anesthésiologie réanimation</b>
MCU-PH	<b>PAYSANT François</b>	<b>Médecine légale et droit de la santé</b>
MCU-PH	<b>PELLETIER Laurent</b>	<b>Biologie cellulaire</b>
PU-PH	<b>PELLOUX Hervé</b>	<b>Parasitologie et mycologie</b>
PU-PH	<b>PEPIN Jean-Louis</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>PERENNOU Dominique</b>	<b>Médecine physique et de réadaptation</b>
PU-PH	<b>PERNOD Gilles</b>	<b>Médecine vasculaire</b>
PU-PH	<b>PIOLAT Christian</b>	<b>Chirurgie infantile</b>
PU-PH	<b>PISON Christophe</b>	<b>Pneumologie</b>
PU-PH	<b>PLANTAZ Dominique</b>	<b>Pédiatrie</b>
PU-PH	<b>POIGNARD Pascal</b>	<b>Virologie</b>
PU-PH	<b>POLACK Benoît</b>	<b>Hématologie</b>
PU-PH	<b>POLOSAN Mircea</b>	<b>Psychiatrie d'adultes</b>
PU-PH	<b>PONS Jean-Claude</b>	<b>Gynécologie obstétrique</b>
PU-PH	<b>RAMBEAUD Jean-Jacques</b>	<b>Urologie</b>
PU-PH	<b>RAY Pierre</b>	<b>Biologie et médecine du développement et de la reproduction</b>
MCU-PH	<b>RENDU John</b>	<b>Biochimie et Biologie Moléculaire</b>
MCU-PH	<b>RIALLE Vincent</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>RIGHINI Christian</b>	<b>Oto-rhino-laryngologie</b>
PU-PH	<b>ROMANET Jean Paul</b>	<b>Ophtalmologie</b>



PU-PH	<b>ROSTAING Lionel</b>	<b>Néphrologie</b>
MCU-PH	<b>ROUSTIT Matthieu</b>	<b>Pharmacologie fondamentale, pharmaco clinique, addictologie</b>
MCU-PH	<b>ROUX-BUISSON Nathalie</b>	<b>Biochimie, toxicologie et pharmacologie</b>
MCU-PH	<b>RUBIO Amandine</b>	<b>Pédiatrie</b>
PU-PH	<b>SARAGAGLIA Dominique</b>	<b>Chirurgie orthopédique et traumatologie</b>
MCU-PH	<b>SATRE Véronique</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>SAUDOU Frédéric</b>	<b>Biologie Cellulaire</b>
PU-PH	<b>SCHMERBER Sébastien</b>	<b>Oto-rhino-laryngologie</b>
PU-PH	<b>SCOLAN Virginie</b>	<b>Médecine légale et droit de la santé</b>
MCU-PH	<b>SEIGNEURIN Arnaud</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
PU-PH	<b>STAHL Jean-Paul</b>	<b>Maladies infectieuses, maladies tropicales</b>
PU-PH	<b>STANKE Françoise</b>	<b>Pharmacologie fondamentale</b>
MCU-PH	<b>STASIA Marie-José</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>STURM Nathalie</b>	<b>Anatomie et cytologie pathologiques</b>
PU-PH	<b>TAMISIER Renaud</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>TERZI Nicolas</b>	<b>Réanimation</b>
MCU-PH	<b>TOFFART Anne-Claire</b>	<b>Pneumologie</b>
PU-PH	<b>TONETTI Jérôme</b>	<b>Chirurgie orthopédique et traumatologie</b>
PU-PH	<b>TOUSSAINT Bertrand</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>VANZETTO Gérald</b>	<b>Cardiologie</b>
PU-PH	<b>VUILLEZ Jean-Philippe</b>	<b>Biophysique et médecine nucléaire</b>
PU-PH	<b>WEIL Georges</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
PU-PH	<b>ZAOUI Philippe</b>	<b>Néphrologie</b>
PU-PH	<b>ZARSKI Jean-Pierre</b>	<b>Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie</b>

**PU-PH** : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers **MCU-PH** : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers

**PU-MG** : Professeur des Universités de Médecine Générale

**MCU-MG** : Maître de Conférences des Universités de Médecine Générale

# REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Olivier Epaulard,

A Madame la Professeure Muriel Cornet,

A Madame la Docteure Caroline Landelle,

A Madame la Docteure Patricia Pavese,

Pour l'honneur que vous me faites de juger ce travail. Plus que de sa valeur scientifique, je suis fière qu'il fasse un pont entre nos différentes disciplines.

A tous ceux qui ont permis ce travail :

La Consultation Mobile d'Infectiologie du CHUGA : Patricia Pavese, Isabelle Pierre, Myriam Blanc, Marie Froidure, Chloé Wackenheim, Fanny Andry, Julie Arata-Bardet, Anne-Laure Mounayar et Jean-Paul Brion pour votre bonne volonté, votre expertise, et votre bonne humeur dans ces interminables séances d'évaluation.

L'équipe d'ARC d'Infectiologie, et particulièrement Saber Touati pour ses conseils solides.

Les secrétaires de l'IBP pour le temps précieux gagné dans la saisie des données.

Toutes les petites mains inconnues qui ont lancé des PCR.

A Yvan Caspar, qui a dirigé ce travail avec une bienveillance et une patience infinies.

Merci d'avoir fait confiance à une inconnue, clinicienne, en médecine générale qui plus est ! J'espère en avoir été digne.

A la Médecine et à tout ce qu'elle m'apporte au quotidien.

Au service d'Infectiologie du CHUGA, pour votre accueil, votre dévouement et un stage stimulant. A la joie de vivre de Maeliss Pacault, grâce à laquelle j'ai eu le bonheur de connaître...

Clément, Julien, Sandrine et Sophie. Merci de m'avoir fait réaliser la beauté de la Médecine Générale. Vous me rendez fière d'avoir fait ce choix.

Au Dr. Florence Suy, pour m'avoir accueillie à Lyon et montré une autre facette de l'infectiologie.

A tout le service de Médecine Interne, Dermatologie et Infectiologie de Chambéry, pour votre compétence, votre humanité, un certain art du lever de coude, et bien d'autres choses qui font de vous une équipe que j'ai hâte de réintégrer.

Au laboratoire de bactériologie du CHUGA, pour ces six mois down the rabbit hole, qui me feraient *presque* douter de mon orientation professionnelle.

A l'équipe Poignard de l'IBS : Audrey, Romy, Sebastian et Axelle. Je lève un petit bécher à vos yeux brillants de curiosité.

A tous ces modèles d'intelligence, de sagesse, d'humanisme, de courage, de détermination et d'humour que j'ai eu la chance de rencontrer, et qui m'éclairent quand le chemin se fait sombre.

A ceux qui sont plus que des collègues :

Jojo. Mélodie, Hubert, Olga, Anne-Flore. Les succulents Denis, Alice, Julien, Niniss, Josy et Erik. VJP, Léa, Tristan, Anaëlle. Fandry, Benjamin et Claire. A Léa lactobacille et Margot pyo, ravie d'avoir aussi partagé le banc de rame avec vous ces derniers mois, j'aspergillus que la fin arrive vite et qu'on la célèbre ensemble dignement.

A la couvée Grenoble Hiver 2016, et nos six premiers mois hors de l'œuf sous le regard attentionné de Louise et Éric. Pensées particulières à Caillou, Nono, Cilou, Charlotte et Alex. A Chaudile, Gras Boudin et votre prodigieuse connerie. A Manon, pour tous les levers de soleil sur ski. A Lucile, pour les joies de la vie en communauté. A Lisa, Laeti la Baronne, Loïc et Geo, qui sentent bon la ~~manade~~ maison. A Lucie, qui a bien mis 6 ans pour rentrer dans ma vie, mais que je ne vois plus en sortir. A Nasser, Adama, Simon, Valery et Bermann, parce que la beauté de l'internat principal de Chambéry était cachée dans vos cœurs. A Sabrina, Renaud et Colleen, qui mettent de la joie dans mes séjours à Paris.

A Kiki, pour la dépressurisation en altitude.

A ceux qui ont bercé mon externat montpelliérain, parfois un peu trop près du mur : Thomage, Nico, Isa, Zob, Mehdius, Manon, Sandrine, Clémy, Juliette, Tibère, Léa, Joffrey, Marie, Caro, Lina, Angélique, Nicolas, Thierry, Ugo...

A Yvonne, à Brigitte et à leur affection quasi maternelle.

Stor takk til Erlend for at du er en poetisk venn. Loving thoughts to mademoiselle Veronica, Juan and Willbright. You sons-of-a-beach gave me more than I could take. To the Pescetto family, to Gregor and to high-precision Bialetti devices, for taking awesomeness to another level.<sup>1</sup>

A Yvan, pour la couleur de l'orge.

A Amans, mon plus vieux copain, pour les souvenirs magiques où s'entremêlent courses dans le rougier, tourtons, contes occitans, phasmes, rires de pipistrelle et blagues à faire dresser sur ta tête ta coupe au bol de l'époque.

A Charlotte, Valentin, Ninon, Arthur, Hugues, Titia, Fouzaia, Maira, Roberto, Fanny, Hugo, Enzo et Lucas. Parce que chaque moment que je passe avec vous est un débrayage miraculeux de l'espace-temps. Parce que mon cœur se déchire quand je pense aux kilomètres qu'il y a entre nous, mais qu'il se raccommode instantanément quand je pense à la chance que j'ai de vous avoir dans ma vie. Vivement notre prochaine aventure.

## A mamie Jackie, qui ne voit bien qu'avec le cœur.

A Faufau, ma petite sorcière blanche. A Tanguy et Marie, pour les moments bien agréables au son des geckos.

A Cécile et à Guilhem, merci de supporter mes cacas nerveux, j'ai une chance inouïe de vous avoir pour sœur et frère.<sup>2</sup>

A mes parents, pour m'avoir laissée faire moi toute seule, mais quand même pas trop, pour l'élevage en plein air, et pour *tout le reste*, que les mots sont inaptes à décrire.

---

<sup>1</sup> Sturm G. Insights about Humanity, Moholt and Herman Kragstveit 9-6 – Axioms of an Exchange Year in Norway. 5 mai 2015 [cité 6 oct 2019] ; Disponible sur: <https://zenodo.org/record/3474208#.XZollGbgo2w>

<sup>2</sup> La reproductibilité de l'écriture de cette ligne n'est pas garantie par son auteur en dehors d'un contexte de privation de sommeil, tant qualitative que quantitative.

# TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	8
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES .....	12
ABBREVIATIONS.....	14
RESUME .....	15
ABSTRACT .....	16
INTRODUCTION .....	17
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES .....	18
Définitions et épidémiologie .....	18
Aspects cliniques des bactériémies et fongémies.....	23
Documentation microbiologique des bactériémies et fongémies .....	26
Prise en charge des bactériémies et fongémies .....	33
Méthodes modernes de diagnostic .....	39
Technologie à l'étude : ePlex®-BCID, GenMark .....	48
ETUDE MICROBIOLOGIQUE ET CLINIQUE.....	58
Matériel et méthode .....	58
Résultats .....	63
DISCUSSION .....	78
BIBLIOGRAPHIE .....	88
ANNEXE.....	97
Annexe 1 : Contenu de l'eCRF .....	97
Annexe 2 : Formulaire aux experts .....	103

## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1 : Caractéristiques de la population touchée en fonction de la nature du champignon en 2017, données du RESSIF.....	21
Tableau 3 : QuickSequential Organ Failure Assessment Tableau 2 : Critères de SRIS.....	24
Tableau 4 : Critères de Shapiro (25) .....	25
Tableau 5 : Stratification du risque de bactériémie en fonction de la situation clinique .....	25
Tableau 6 : Spectre antifongique, d'après les données du CNR-MA, non publiées. (14,40) .....	31
Tableau 7 : Méthodes sur sang total .....	45
Tableau 8 : Méthodes sur hémocultures positives.....	45
Tableau 9 : Comparaison des panels Gram Positif FilmArray® et ePlex® et implications cliniques.....	52
Tableau 10 : Comparaison des panels Gram Négatif FilmArray® et ePlex® et implications cliniques.....	54
Tableau 11 : Comparaison des panels fongiques FilmArray® et ePlex® et implications cliniques.....	56
Tableau 12 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram positif.....	65
Tableau 13 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram négatif.....	67
Tableau 14 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures mono-microbiennes à levure .....	68
Tableau 15 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures polymicrobiennes .....	70
Tableau 16 : Caractéristiques de la population étudiée.....	73
Tableau 17: Modifications de l'antibiothérapie.....	74
Tableau 18 : Décisions erronées des experts suite aux résultats erronés de la PCR .....	75

Figure 1 : Epidémiologie des bactériémies au CHU de Grenoble Alpes pour l'année 2017. Bilan des bactériémies 2017, collaboration Bactériologie – Infectiologie - Hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes.....	20
Figure 2 : Espèces retrouvées dans les 4455 épisodes de fongémies déclarés en 2017, données du RESSIF .....	22
Figure 3 : Variations épidémiologiques des candidémies en fonction de la pré-exposition aux antifongiques, Lortholary et al.....	22
Figure 4 : Morphologies de différents micro-organismes. Collection personnelle.....	28
Figure 5 : Workflow actuel du laboratoire .....	32
Figure 6 : Mortalité en fonction du délai d'introduction d'un traitement antimicrobien efficace, d'après Kumar et al, 2006 .....	33
Figure 8 : Evolution de la proportion des <i>K. pneumoniae</i> productrices de carbapénémases : 19% en 2009 et 20% en 2017, d'après les données de l'EARS. 35	35
Figure 7 : Evolution de la proportion des <i>E. coli</i> résistants aux C3G : 2,5% en 2009 et 15% en 2017, données EARS. ....	35
Figure 9 : Proportion des modifications d'antibiothérapie pendant une infection en cours dans les hôpitaux européens, données EU/EEA et Serbie du groupe Point Prevalence Survey (PPS) pour la période 2016-2017 .....	37
Figure 10 : Proportion de chaque type de BLSE en fonction de l'espèce, d'après Robin et al.....	41
Figure 11 : La technologie eSensor .....	48
Figure 12 : Les trois panels ePlex®-BCID : GP (Gram Positif), GN (Gram Négatif) et FP (Fungal Pathogene : Fongique) .....	50
Figure 13 : Diagramme de flux .....	63
Figure 14 : Germes responsables de nos épisodes de bactériémie et fongémies....	64
Figure 15 : Origine supposée des infections.....	73

## ABBREVIATIONS

AST (Antimicrobial Susceptibility Testing) : évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

BCYE : Buffered Charcoal Yeast Extract (milieu de culture de mycologie)

BGN : Bacille Gram Négatif

BLSE : Bêta-lactamase à spectre étendu

BMR : Bactérie Multi Résistante

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme – Société Française de Microbiologie

CGP : Cocci Gram Positif

CLSI : Clinical & Laboratory Standard Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

ERG / VRE : *Enterococcus* résistant aux glycopeptides / Vancomycine resistant *Enterococcus*

EI : Endocardite Infectieuse

EUCAST : EUropean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FP / FN : Faux Positif / Faux Négatif

GN / GP : Gram Négatif / Gram Positif

HACEK : *Haemophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Capnocytophaga spp.*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*

IDSA : Infectious Diseases Society of America

IOA : Infection Ostéo-Articulaire

NA : Non Applicable

NSP : Ne Sait Pas

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAM : Pression Artérielle Moyenne

PCR : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne)

RUO : Research Use Only

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SIL : Système Informatique des Laboratoires

SNC : Système Nerveux Central

VP / VN : Vrai Positif / Vrai Négatif



## RESUME

### EVALUATION DES PERFORMANCES MICROBIOLOGIQUES ET DE L'IMPACT CLINIQUE POTENTIEL DE LA PCR MULTIPLEXE EPLEX-BCID® (GENMARK DIAGNOSTICS) POUR LE DIAGNOSTIC RAPIDE DES BACTERIEMIES ET FONGEMIES - HEMOFAST I

**Introduction** : Afin d'améliorer le pronostic des bactériémies et des fongémies, il semble aujourd'hui nécessaire de disposer de nouveaux tests rapides car les stratégies conventionnelles nécessitent environ 24 à 48h pour l'obtention de l'identification du ou des pathogènes en cause et la détermination de leur sensibilité aux anti-infectieux.

**Méthode** : Les performances microbiologiques de la PCR multiplexe ePlex-BCID® (GenMark Diagnostics), permettant une identification de 56 bactéries et levures et de 10 marqueurs de résistance, en 1h30 à partir du flacon d'hémoculture positif, ont été évaluées sur 187 épisodes de bactériémie et fongémie. Une étude rétrospective de l'impact clinique potentiel des résultats obtenus a été réalisée sur 158 épisodes.

**Résultats** : Une concordance de 93% pour l'identification des micro-organismes et des marqueurs de résistance présents dans le panel de la PCR multiplexe a été observée par rapport à la stratégie de diagnostic par subculture. Une identification fiable du genre et de l'espèce, tous micro-organismes confondus, a été obtenue dans 173/187 (92,5%) et 148/187 (79%) des épisodes respectivement. 100% des marqueurs de résistance et 87,5% des épisodes polymicrobiens ont été correctement identifiés. L'ePlex-BCID aurait fait modifier le traitement anti-infectieux dans 45% des cas. Il aurait induit 4,4% de décision erronées par les cliniciens.

**Conclusion** : L'ePlex-BCID montre des performances microbiologiques et un impact potentiel prometteurs, qui devront être confirmés dans un essai prospectif contrôlé.

MeSH : Bactériémie ; Septicémie fongique ; Réaction de polymérisation en chaîne ;  
Bon usage des antimicrobiens

FILIERE : D.E.S. Médecine Générale - D.E.S.C. Pathologie Infectieuse et Tropicale

## ABSTRACT

### EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL PERFORMANCES AND POTENTIAL CLINICAL IMPACT OF THE EPLEX-BCID® MULTIPLEX PCR FOR RAPID DIAGNOSIS OF BLOODSTREAM INFECTIONS

**Introduction** : Novel rapid diagnosis tools are needed to improve the outcome of bloodstream infections (BSI), as conventional diagnosis techniques currently need 24 to 48 hours to yield a complete result (of both identification and antimicrobial susceptibility testing).

**Methods** : The ePlex-BCID® system is a multiplex PCR performing identification in 1.5 hours of 56 bacterial and fungal targets, along with 10 resistance markers, directly from positive blood culture bottles. We assessed its microbiological performances on 187 BSI episodes of bacteraemia and fungemia. Retrospective analysis of its potential clinical impact has also been determined for 158 of these episodes.

**Results** : A global agreement rate of 93% has been found for the ePlex® multiplex PCR method compared to our current diagnosis strategy after exclusion of off-panel and true positive results. All samples together, correct identification to the genus and species level was found respectively in 173/187 (92.5%) and 148/187 (79%) of the BSI episodes. 100% of the resistance markers were detected. All the micro-organisms were correctly identified to the genus level in 87.5% of the polymicrobial blood cultures. The empiric anti-microbial treatment would have been modified in 45% of the episodes based on the results of the test. The test would have misled the clinician's decision in 4.4% of the episodes.

**Conclusion** : The ePlex-BCID® system showed promising microbiological performances and potential clinical impact, that still needs to be confirmed in a prospective randomized trial.

MeSH : Bacteremia ; Fungemia ; Polymerase Chain Reaction ; Antimicrobial stewardship

## INTRODUCTION

Les bactériémies et fongémies sont des infections responsables d'une forte morbi-mortalité, dont l'incidence a tendance à augmenter du fait du vieillissement de la population et de sa médicalisation croissante. L'amélioration de leur pronostic est un enjeu de santé publique mondial.

Ce pronostic est directement lié à la rapidité d'introduction d'un traitement anti-infectieux efficace. Or les moyens diagnostiques actuels ne permettent pas de rendu de résultat avant au moins 24h. Cette documentation est cruciale dans le contexte d'antibiorésistance croissante, qui rend compliqué le choix du traitement empirique, conduisant à l'utilisation de molécules anti-infectieuses à large spectre, dont certaines font courir un risque accru de toxicité pour le patient, et qui augmentent la pression de sélection de germes résistants dans l'environnement.

L'adaptation rapide de l'antibiothérapie empirique est donc une clé pour améliorer le pronostic individuel, mais aussi le bon usage collectif des anti-infectieux.

Cette adaptation rapide ne peut être réalisée qu'en accélérant la documentation microbiologique. Parmi les nouveaux tests de diagnostic rapide récemment mis sur le marché, nous avons évalué la PCR multiplexe ePlex-BCID® (GenMark), qui est capable d'identifier 56 bactéries et levures, ainsi que 10 marqueurs de résistance ayant un fort impact clinique potentiel, directement à partir du flacon d'hémoculture positif.

# DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

## Définitions et épidémiologie

Les bactériémies et les fongémies sont respectivement définies par la présence de bactéries et de champignons viables dans le sang, milieu habituellement stérile.

Les bactériémies peuvent survenir de manière physiologique, par translocation fugace à partir d'un site anatomique naturellement colonisé par une flore, qui peut être secondaire à un geste (manipulation de lésion cutanée, brossage de dents, coloscopie...). Elles sont généralement rapidement contrôlées par l'immunité innée.

Elles sont cependant le plus souvent diagnostiquées dans un contexte infectieux aigu ou subaigu. Elles témoignent alors d'une translocation secondaire à partir d'un foyer infectieux qu'il faut rechercher, ou d'une infection primaire endovasculaire. (1)

L'incidence des bactériémies et fongémies en Europe et Amérique du Nord est estimée à deux millions d'épisodes par an (166-189 pour 100000 personne par an). Avec une mortalité intra-hospitalière de 13 à 21% selon les études, elles se classent dans les dix premières causes de mortalité globale, et représentent la première cause de mortalité par infection dans ces pays. (2) Leur incidence a tendance à augmenter, en particulier celle des bactériémies et fongémies liées aux soins et nosocomiales, dont la mortalité reste stable. (3) Le surcoût économique direct moyen d'une bactériémie ou fongémie nosocomiale a été estimé de 4900€ par épisode. (4) Pour arriver à une estimation globale du coût économique de toutes les bactériémies et fongémies, il faudrait y ajouter le surcoût économique des bactériémies et fongémies communautaires et associées aux soins, ainsi que le coût indirect sociétal en termes de mortalité prématurée, arrêt-maladie etc., qui représenterait 70% du coût total des épisodes de sepsis. (5) L'incidence, la sévérité et la mortalité des épisodes de bactériémie ou fongémie augmentant avec l'âge, leur impact augmente parallèlement au vieillissement de la population (6).

Des données à grande échelle manquent pour évaluer l'impact exact des bactériémies et fongémies dans les pays en voie de développement. Leur incidence est probablement très sous-estimée par l'incidence du paludisme dans les régions d'endémie de ce parasite. (7) Une étude kenyane a montré que 70% des patients bactériémiques avaient un diagnostic initial de paludisme. (8) Une méta-analyse a

montré que 10% des patients fébriles hospitalisés dans les pays en voie de développement ont une bactériémie et fongémie. (9)

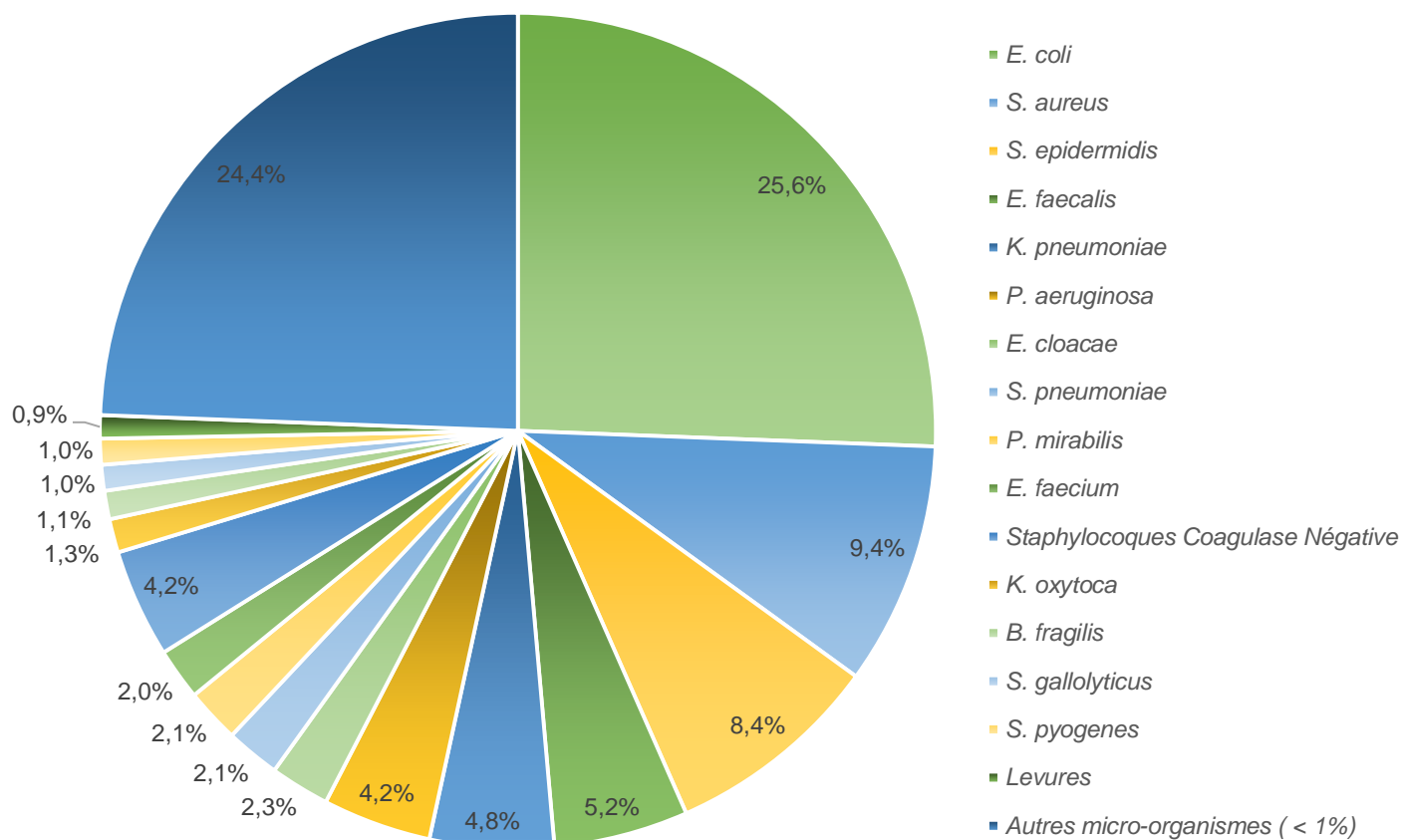
L'amélioration de leur prise en charge est donc un enjeu de santé publique mondial, comme en témoigne la campagne « Surviving Sepsis » lancée en 2004, qui fournit régulièrement des directives de pratique clinique, la dernière version datant de 2017. (10)

L'étude SPA-BACT (11), conduite récemment dans 121 structures hospitalières françaises différentes, a décrit l'épidémiologie, les caractéristiques cliniques et les facteurs prédictifs de mortalité des bactériémies et fongémies françaises. La population touchée était majoritairement masculine, avec une médiane d'âge de 73 ans. Deux tiers des patients avaient des infections considérées comme non sévères, un tiers avaient des infections responsables d'un état de sepsis, et 10% étaient en choc septique. Les bactériémies ou fongémies étaient communautaires dans 45% des cas, liées aux soins dans 16% des cas et nosocomiales dans 39% des cas. Les portes d'entrée infectieuses initiales étaient par ordre d'importance : urinaire, liée à la présence d'un cathéter intravasculaire, digestive. Les germes le plus souvent en cause appartenaient aux espèces *Escherichia coli* (28%) et *Staphylococcus aureus* (17%). Des mécanismes de résistances aux antibiotiques usuels utilisés pour le traitement des bactériémies (production de BLSE ou carbapénèmases, résistance à la méticilline de *S. aureus*, résistance aux glycopeptides des entérocoques, résistance aux bêta-lactamines des streptocoques, résistance au ceftazidime ou à l'imipénème des BGN non fermentant) ont été retrouvées chez 10% des bactéries en cause. La mortalité à 10 jours était de 10%, avec comme principaux facteurs de risque : la sévérité de l'infection, l'allergie aux bêta-lactamines, un âge supérieur à 72 ans, une porte d'entrée autre qu'urinaire ou l'introduction d'un traitement efficace dans un délai supérieur 48h. L'intervention d'une équipe mobile d'infectiologie est en revanche apparue comme un facteur protecteur.

Au CHU Grenoble Alpes, l'épidémiologie des bactériémies et fongémies - basée sur les données collectées quotidiennement et revues au cours d'un staff multidisciplinaire impliquant les services de Bactériologie, d'Infectiologie et d'Hygiène hospitalière - est sensiblement la même que celle de l'étude SPA-BACT, à l'exception d'une plus faible prévalence de bactériémies à *S. aureus* (Figure 1). Les micro-organismes impliqués dans les infections vraies (contaminations exclues) en 2017 sont détaillés dans la

Figure 1. Les résistances bactériennes relevées en 2017 montrent : 7,9% de résistance à la méticilline parmi les bactériémies à *S. aureus* ; 8,7% de BLSE parmi les bactériémies à *E. coli*, 17,9% de BLSE parmi les bactériémies à *K. pneumoniae*, < 1% de BGN producteurs de carbapénèmase, 1% d'ERG parmi les bactériémies à *Enterococcus*.

Figure 1 : Epidémiologie des bactériémies au CHU de Grenoble Alpes pour l'année 2017. Bilan des bactériémies 2017, collaboration Bactériologie – Infectiologie - Hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes



### Cas particulier des fongémies

Les fongémies sont incluses parmi les infections du sang au même titre que les bactériémies dans la plupart des études épidémiologiques. Pourtant, elles représentent moins de 1% de tous les micro-organismes mis en évidence. Leur incidence, la population touchée ainsi que leur morbi-mortalité attribuable les différencie des bactériémies et conduit à les appréhender à part.

Les fongémies font partie des infections fongiques invasives (IFI), avec la cryptococcose, les mucormycoses, l'aspergillose invasive, la pneumocystose, et les autres mycoses rares et/ou endémiques.

A la différence des bactériémies, les fongémies ne sont jamais considérées comme physiologiques. Elles surviennent dans des contextes immunitaires altérés : hémopathies malignes avec ou sans greffe de cellules souches, greffés d'organe solide, nouveau-nés, patients traités par corticoïdes ou par chimiothérapie anticancéreuse ; ou d'autres contextes particuliers : séjour prolongé en réanimation, cathéter veineux central, nutrition parentérale, hémodialyse, traitement par antibiotiques à large spectre, chirurgie abdominale, tumeurs solides, pancréatite aiguë et colonisation à *Candida* (Tableau 1). (12,13) Le CNR Mycoses invasives et Antifongiques (CNR-MA) recense toutes les IFI déclarées par les réseaux de surveillance, dont le RESeau de Surveillance des Infection Fongiques invasives (RESSIF). (14)

**Tableau 1 : Caractéristiques de la population touchée en fonction de la nature du champignon en 2017, données du RESSIF**

	Levures		Dimorphiques (n=15)	Filamenteux (n=58)
	Ascomycètes (n= 4259)	Basidiomycètes (n = 130)		
<b>Sexe ratio</b>	1,6 / 1	2,1 / 1	3,7 / 1	1,1 / 1
<b>Age médian [extrêmes]</b>	63 [0 – 98]	52 [0 – 85]	46 [26 – 61]	57 [0 - 90]
<b>Facteurs de risque</b>				
Pathologie maligne	38,5%	36,4%	14,3%	60,9%
Chirurgie récente	32,2%	8,3%	-	6,5%
Transplantation d'organe	3,3%	9,9%	-	2,2%
Infection VIH	0,2%	22,3%	85,7%	-
Autres	25,5%	21,5%	-	28,3%
Aucun	0,4%	1,7%	-	2,2%
Tt corticoïde prolongé	11,3%	16,2%	6,7%	24,1%
<b>Mortalité globale à 3 mois</b>	41.1%	29,8%	38,5%	39,2%

Deux études françaises à grande échelle ont étudié les tendances épidémiologiques entre 2001 et 2010. (15,16)

Les candidémies étaient responsables de 43% des IFI, avec une incidence de 2,5 pour 100000 personne par an (Figure 2). Leur épidémiologie dépend de la pré-exposition aux anti-fongiques (Figure 3). Leur incidence a augmenté de 7,8% par an pendant la période observée. Alors que la mortalité à 30 jours a globalement diminué de 1,6% par an pendant la période observée, elle a augmenté chez les patients en réanimation. Les facteurs associés à la mortalité étaient : l'âge, la présence de cathéter artériel, une candidémie à *Candida kefyr*, une préexposition à la caspofungine et l'absence d'antifongique au moment du résultat de l'hémoculture. Les facteurs apparaissant comme protecteurs étaient une chirurgie récente et une candidémie à *Candida parapsilosis* ou *Candida glabrata*.

Figure 2 : Espèces retrouvées dans les 4455 épisodes de fongémies déclarés en 2017, données du RESSIF

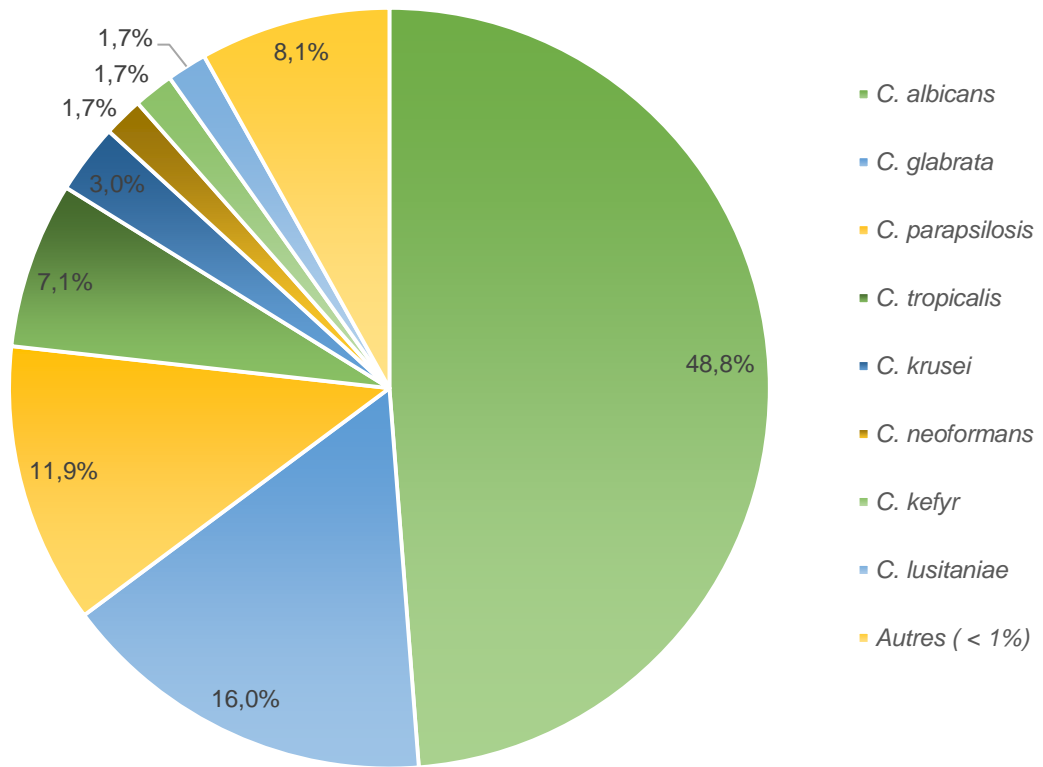
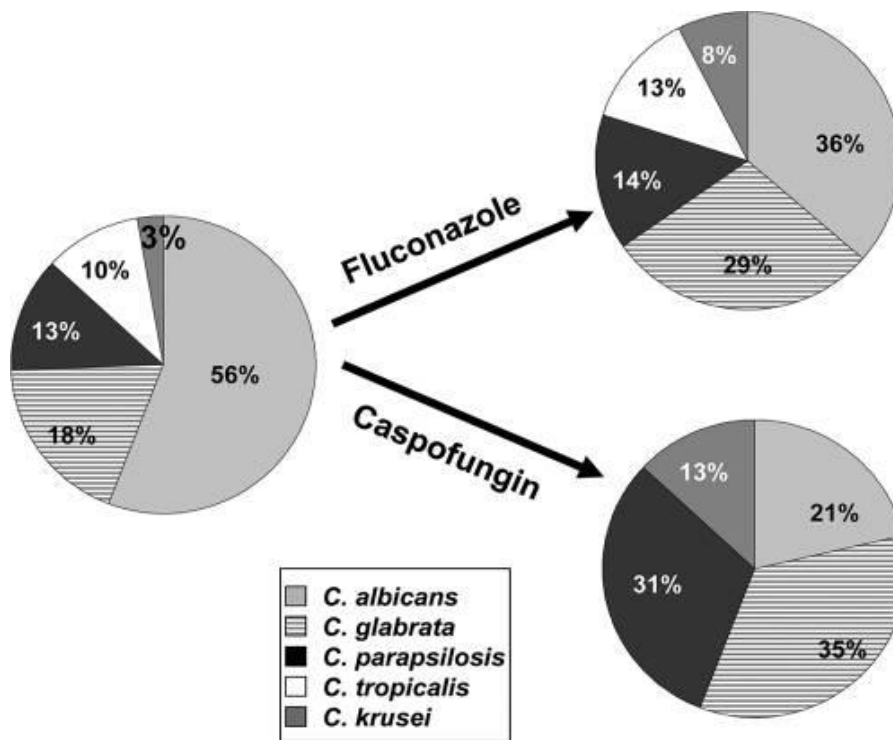


Figure 3 : Variations épidémiologiques des candidémies en fonction de la pré-exposition aux antifongiques, Lortholary et al





# Aspects cliniques des bactériémies et fongémies

Le diagnostic de bactériémie ou de fongémie est posé lors de la mise en évidence du pathogène dans le sang, parfois plusieurs jours après son prélèvement (Cf. chapitre dédié au diagnostic des bactériémies et fongémies ci-dessous). Néanmoins, prélever des hémocultures à tous les patients suspects d'infection fait courir le risque d'une augmentation de résultats faussement positifs, liés à des contaminations, qui sont eux-mêmes associés à une administration injustifiée d'antibiotique (20-59% d'administration injustifiée de vancomycine), une augmentation significative de la durée (1-22 jours supplémentaires) et des coûts d'hospitalisation (3,770\$ vs. 2,613\$ par patient ( $P < 0,005$ )). (17)

Les symptômes et signes infectieux, étant la conséquence d'une interaction unique micro-organisme – hôte – environnement, ne correspondent pas à une entité clinique clairement définie. Toute la difficulté du diagnostic d'infection est illustrée dans le fait que, pour 40% des patients admis en réanimation avec un diagnostic de sepsis, le diagnostic d'infection (et donc de sepsis) n'est pas retenu en analyse post-hoc. (18)

La réaction inflammatoire, localisée (œdème, rougeur, chaleur) et/ou systémique (fièvre, tachycardie, hyperleucocytose), témoin de la réponse immunitaire innée de l'organisme à l'infection, est aspécifique et inconstante. D'autres signes cliniques divers peuvent s'ajouter en fonction du site primaire infecté (ex : raideur de nuque en cas de méningite, souffle cardiaque en cas d'endocardite infectieuse, ...).

Une infection peut également être évoquée en l'absence des signes infectieux habituels, en cas :

- de terrain sous-jacent conférant une susceptibilité particulière aux infections (immunodépression, anomalie anatomique ou fonctionnelle, présence de matériel étranger, dont cathéter intravasculaire...)
- d'exposition à risque infectieux (voyage, exposition sexuelle, toxicomanie IV, contact animal, geste médical invasif, ...)
- de situations pouvant masquer des signes infectieux (neutropénie, prise d'anti-pyrétique ou anti-inflammatoire ...).

A la réponse adaptée de l'organisme à l'infection, peut s'ajouter un sepsis, c'est-à-dire, d'après la nouvelle définition du consensus Sepsis-3, une réponse dérégulée de l'organisme à l'infection, entraînant une ou plusieurs défaillances d'organe (cardiovasculaire, neurologique, respiratoire, rénale, hépatique, troubles de la

coagulation).(19) Le choc septique est un sous-ensemble du sepsis, correspondant à une défaillance circulatoire et à une dysfonction cellulaire responsables d'une augmentation significative de la mortalité. Il est défini consensuellement par un sepsis associé à une hypotension nécessitant un vasopresseur pour maintenir une PAM  $\geq$  65mmHg, une lactatémie  $\geq$  2mmol/L, malgré un remplissage adéquat (au moins 30mL/kg de fluide cristalloïde pendant les 3 premières heures). (19) En cas de suspicion d'infection, les défaillances d'organe doivent être évaluées de façon systématique. Réciproquement, en cas de défaillance d'organe, les symptômes et signes infectieux doivent être recherchés.

La sévérité de l'infection est objectivée par des scores clinico-biologiques reproductibles. Le Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) est le score recommandé par les directives Sepsis-3. Un SOFA  $\geq$  2 est associé à une mortalité hospitalière d'environ 10% chez le patient suspect de sepsis. (20,21) Le Quick SOFA (qSOFA), version simplifiée du SOFA ne comportant que des critères cliniques permettant son utilisation lors de l'évaluation initiale du patient suspect d'infection, est spécifique mais manque de sensibilité, surtout lorsqu'il est utilisé en dehors des services de réanimation (Tableau 3). A l'inverse, les critères de Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique (SRIS) sont sensibles mais peu spécifiques (Tableau 2). (22)

Tableau 2 : QuickSequential Organ Failure Assessment

Critères	Seuil	Points
Fréquence respiratoire	$\geq$ 22 cycles par minute	1
Glasgow Coma Scale	< 15	1
PAS	< 100mmHg	1

Tableau 3 : Critères de SRIS

T°	> 38°C ou < 36°C
FC	> 90 bpm
FR	> 20 cycles/min ou PaCO <sub>2</sub> < 32mmHg
Leucocytes	> 12.000/mm <sup>3</sup> ou < 4000/mm <sup>3</sup>

Toute infection n'est pas synonyme de bactériémie ou de fongémie. Il existe une tendance à surestimer la probabilité de bactériémie devant un patient septique. (23) La probabilité pré-test d'infection doit donc être évaluée de façon objective.

L'absence des critères de SRIS (Tableau 2) et des critères de Shapiro (Tableau 4) permet d'identifier les patients à faible risque de bactériémie avec une bonne valeur prédictive négative (hors patients immunodéprimés ou suspects d'endocardite infectieuse). (24–26)

Tableau 4 : Critères de Shapiro (25)

Critères majeurs	Critères mineurs (1 point)
Endocardite suspectée (3 points)	Température entre 38,3 et 39,3°
Température > 39,4° (3 points)	Âge > 65 ans
Cathéter intravasculaire (2 points)	Frissons
	Vomissements
	TAS < 90mmHg
	GB > 18G/L
	Myélocytose > 5%
	Plaquettes < 150 G/L
	Créatinine > 176µmol/L
<i>1 critère majeur ou 2 critères mineurs recommandent la réalisation d'hémocultures</i>	

Une méta-analyse a stratifié le risque de bactériémie selon la situation clinique, résumé dans le tableau 5. (27)

Tableau 5 : Stratification du risque de bactériémie en fonction de la situation clinique

Risque	Situations cliniques	Probabilité pré-test
<b>Faible</b>	Cellulite	2%
	Patient ambulatoire	2%
	Pneumonie Communautaire Aigue	7%
	Fièvre justifiant une hospitalisation	13%
<b>Intermédiaire</b>	Pyélonéphrite	19-25%
<b>Elevé</b>	Sepsis	38%
	Méningite bactérienne	53%
	Choc septique	69%

En revanche, aucun score clinique fiable ne permet de prédire la nature du micro-organisme responsable de l'infection.

# Documentation microbiologique des bactériémies et fongémies

La documentation microbiologique correspond à l'identification de l'agent infectieux en cause, si possible au genre et à l'espèce, ainsi qu'à l'évaluation de sa sensibilité aux anti-infectieux. Il s'agit d'une étape essentielle au diagnostic infectiologique : elle permet de confirmer le diagnostic, de préciser le pronostic, d'adapter le traitement anti-infectieux, et parfois de poser une indication chirurgicale. Documenter les infections a également un intérêt en santé publique, afin de prévenir et monitorer la transmission de pathogènes particulièrement virulents ou résistants dans la population et d'adapter les recommandations de traitement empirique. Cette documentation microbiologique doit donc être la plus fiable et rapide possible.

Concernant les bactériémies et fongémies, le test de référence (Gold Standard) est l'hémoculture. Il consiste en un ensemencement de sang du patient suspect de bactériémie ou de fongémie dans des flacons contenant un milieu de culture liquide, puis à l'incubation et à la détection des flacons positifs dans un système automatisé. En effet, en cas de bactériémie ou fongémie, le nombre de bactéries ou levures par mL de sang est très faible (< 1 à 30 CFU/ml chez l'adulte, jusqu'à 100 CFU/ml chez l'enfant) (28), rendant la détection directe du pathogène impossible. En cas de flacon positif, celui-ci est subcultivé sur différents milieux de culture solides, afin de permettre l'identification du germe et l'évaluation de sa sensibilité aux anti-infectieux. Le diagnostic microbiologique des bactériémies et des fongémies est en constante évolution à la recherche d'une meilleure sensibilité, d'une accélération du rendu des résultats, et d'une automatisation du processus.

## Prélèvement d'une hémoculture

En pratique, les hémocultures sont prélevées par paire comprenant un flacon aérobie et un flacon anaérobie. Le milieu de culture que ces flacons contiennent est légèrement différent en fonction du fournisseur. Il contient fréquemment un système inactivateur d'anti-infectieux, pour augmenter la sensibilité du test en cas de traitement anti-infectieux débuté préalablement au prélèvement de l'hémoculture, et un système de captation de l'O<sub>2</sub> dans les flacons anaérobies. (29) Il existe des flacons spécifiques à la détection des champignons, qui sont prélevés en cas de suspicion d'infection

fongique (Cf. critères cliniques précédemment cités). Ils accélèrent leur détection et permettent la croissance de champignons rares, alors que les levures du genre *Candida* sont généralement capables de pousser sur les flacons classiques de bactériologie. (30) De même, il existe des flacons dits « pédiatriques », qui permettent de prélever des volumes de sang inférieurs (0,5-3mL) tout en conservant une sensibilité satisfaisante.

Les systèmes de culture et de détection de croissance bactérienne ou fongique, auparavant manuels avec détection visuelle, sont maintenant automatisés avec monitoring continu de témoins d'activité métaboliques des micro-organismes recherchés (taux de CO<sub>2</sub> ou variations de pression en fonction du fournisseur) dans les flacons. Le seuil de détection des bactéries et champignons dans un flacon d'hémocultures s'est ainsi abaissé autour de 1 CFU/mL de sang. (31)

La sensibilité des hémocultures est cependant fortement tributaire de la quantité de sang prélevée. Chez l'adulte, il est recommandé de prélever 40 à 60mL de sang, réparti en deux à trois paires d'hémoculture. En pratique plus de 80% des flacons de notre CHU sont insuffisamment remplis, ce qui est également le cas dans la plupart des centres hospitaliers. (32)

Les hémocultures standard ont également une mauvaise sensibilité sur les bactéries à croissance lente ou fastidieuse et les champignons (environ 50% pour ces derniers) (12).

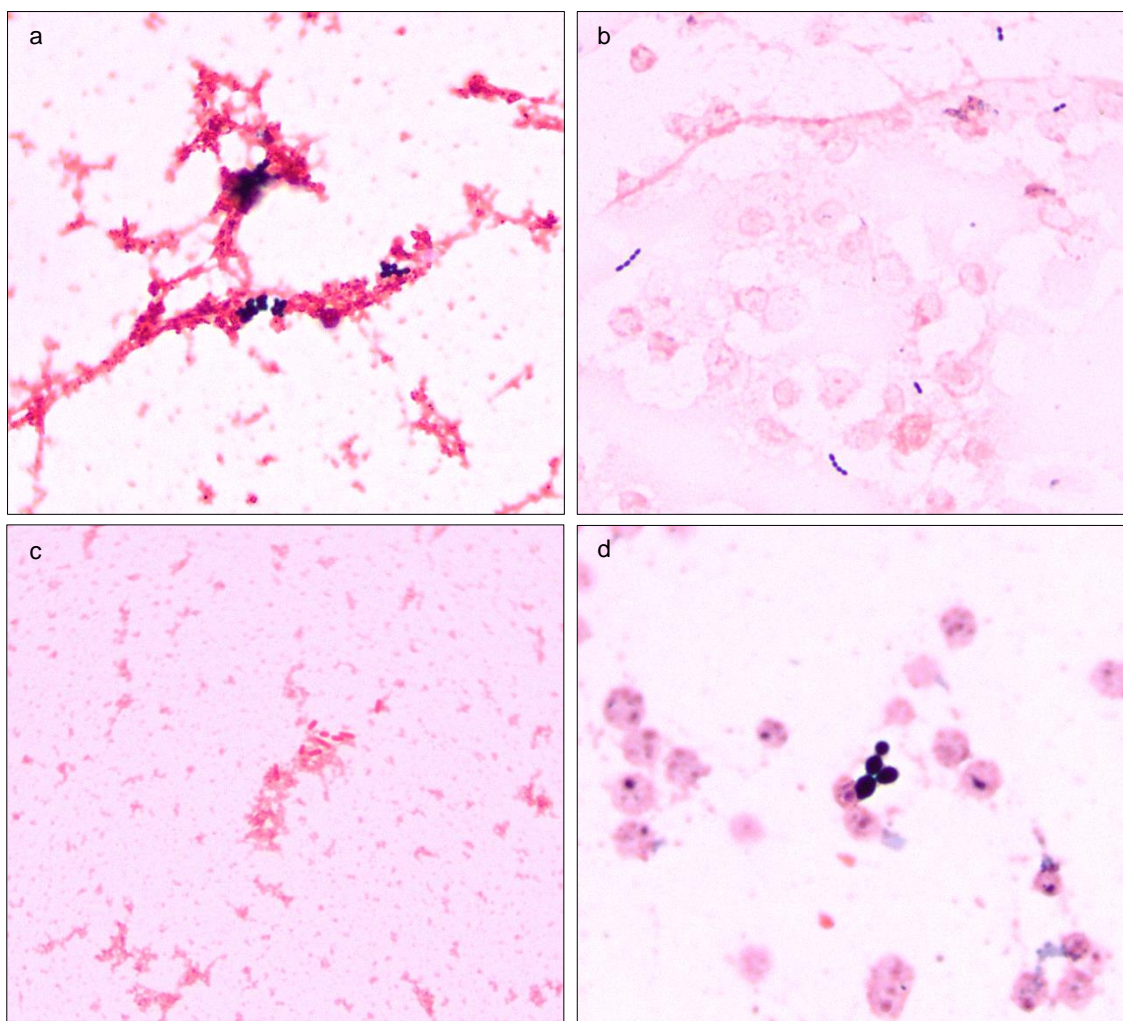
La sensibilité peut être augmentée en allongeant le délai d'incubation jusqu'à 4 semaines pour la recherche de mycobactéries, mais il n'a pas été démontré de bénéfice à allonger le délai d'incubation pour les bactéries du groupe HACEK. (33) La sensibilité peut aussi être augmentée en utilisant des techniques de culture spéciales, par exemple : les milieux Isolator (hémoculture sur milieu solide) pour les champignons dimorphiques et *Bartonella* spp., ou les milieux BCYE pour *Legionella* spp.. Ces méthodes sont longues et peu compatibles avec la routine du laboratoire. (29). Les bactéries intra-cellulaires strictes (Rickettsies, *Coxiella burnetii*, *T. whipplei*) ne sont pas mises en évidence par les hémocultures standard (34), de même que certains champignons (*Aspergillus*, mucorales) (12).

Enfin, en cas d'exposition préalable du patient à un traitement anti-infectieux, l'hémoculture peut ne pas être détectée positive. (35)

## Subculture et observation microscopique des flacons positifs

Une goutte du flacon d'hémoculture ayant été détecté positif est étalée sur lame et colorée par la technique de Gram. L'examen au microscope optique permet d'observer les germes présents dans le flacon. Leur coloration, morphologie, conformation et condition de pousse (aérobie ou anaérobie) donne un premier indice sur la nature de l'agent infectieux (CGP, CGN, BGN, BGP, levures) et permet une première orientation du traitement anti-infectieux (Figure 4). L'exploitation globale de ces informations dépend du niveau d'expérience de l'opérateur.

**Figure 4 : Morphologies de différents micro-organismes. Collection personnelle.**



*Cocci Gram Positifs évoquant des staphylocoques (a) et des streptocoques / entérocoques (b)  
Bacilles à Gram Négatif évoquant des entérobactéries (c) Levures (d)*

Les bactéries à Gram-négatif comportent une membrane externe et un peptidoglycane étroit. Après l'étape de coloration par le cristal violet, elles sont décolorées par le mélange alcool/acétone et sont par la suite contre-colorées en rose par la fuchsine ou la safranine. Au contraire des bactéries à Gram-positif qui possèdent un peptidoglycane épais et restent colorées en violet.

Le contenu du flacon d'hémoculture positif est ensuite ensemencé sur différents milieux solides, dont la nature dépend des germes vus à l'examen microscopique (ex : gélose au sang de mouton, Drigalski, CAN2, ANC, ...).

### Identification

L'identification à l'espèce et au genre a longtemps été obtenue via les caractéristiques enzymatiques et biochimiques de l'agent infectieux. Elle est maintenant obtenue par spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) dans la plupart des laboratoires d'analyses médicales. Il s'agit d'une méthode d'identification, dans laquelle les protéines de l'agent infectieux à identifier sont ionisées et volatilisées par un laser à l'aide d'une matrice. Le contenu protéique de la bactérie ou levure à identifier est analysé sous forme de spectre des rapports masse/charge ( $m/z$ ) des protéines présentes. Ce profil protéique va être comparé à une base de données, régulièrement mise à jour. Le processus entier ne prend que quelques minutes, avec un temps technicien réduit et permet d'obtenir un résultat d'identification un jour plus tôt que les anciennes techniques biochimiques. L'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF nécessite, pour l'instant dans la majorité des laboratoires, une étape de culture sur milieu solide, bien que des techniques rapides directement à partir du flacon commencent à être disponibles. Il est nécessaire de réaliser les identifications sur des colonies isolées car la spectrométrie de masse MALDI-TOF ne peut pas identifier des échantillons polymicrobiens, à cause de la superposition des profils protéiques des différents agents infectieux. (36) Cette identification par spectromètre de masse MALDI-TOF après 24h de subculture a révolutionné l'organisation du laboratoire, a accéléré le rendu des résultats de 24h, et a démontré une réduction de la mortalité et des coûts d'hospitalisation liés aux bactériémies lorsqu'elle est associée à l'adaptation rapide de l'antibiothérapie par une équipe d'infectiologie dédiée. (37)

Cependant, de rares agents infectieux restent mal discriminés, rendant nécessaire la réalisation de tests complémentaires dans certains cas. Par exemple, l'identification d'un streptocoque alpha-hémolytique fait réaliser un test à l'optochine pour différencier un *Streptococcus pneumoniae* d'un streptocoque du groupe *mitis/oralis*. Enfin, le MALDI-TOF ne fournit aucune information sur la sensibilité aux anti-infectieux.

## Evaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

Pour les bactériémies, l'évaluation de la sensibilité aux antibactériens est primordiale au vu de la prévalence des résistances aux différents antibiotiques utiles en cas de bactériémie. L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée *in vitro* par un antibiogramme selon les recommandations du CA-SFM-EUCAST. L'antibiogramme peut être réalisé directement à partir du flacon positif, en cas de bactériémie mono-microbienne à CGP ou BGN, ou après subculture. Il peut être réalisé par méthode de diffusion en milieu gélosé, ou par méthode de micro-dilution en milieu liquide, automatisée ou non. Des tests complémentaires peuvent être réalisés en cas de phénotypes de résistance particuliers. On peut citer la méthode des disques rapprochés et de la gélose cloxacilline pour le typage du mécanisme de résistance aux C3G (BLSE ou céphalosporinase dérégulée), ou encore les PCR spécifiques, bandelettes immunochromatographiques, ou tests phénotypiques pour la détection et la confirmation des carbapénémases.

En ce qui concerne les fongémies, la sensibilité aux antifongiques est évaluée *in vitro*, la plupart du temps par réalisation de CMI en milieu gélosé sous la forme de bandelettes à gradient de concentration (E-test), et parfois en milieu liquide par micro-dilution selon la technique EUCAST ou la technique CLSI.

L'interprétation de l'antifongigramme possède des particularités par rapport à celle de l'antibiogramme. Par exemple, on n'observe, pour certains champignons, pas de corrélation entre la CMI E-test et en micro-dilution, ou de corrélation entre la CMI et le succès clinique, rendant impossible la définition de breakpoint cliniques. Par exemple, la sensibilité *in vitro* de *C. neoformans* au fluconazole, amphotéricine B et flucytosine ne prédit pas le succès clinique *in vivo*. (38) Ainsi, les recommandations de l'IDSA sur la prise en charge de la cryptococcose neuro-méningée réservent la réalisation de l'antifongigramme de *C. neoformans* aux situations d'échec de traitement initial ou en cas de préexposition à un antifongique. (39)

L'évaluation de la sensibilité aux antifongiques pour les espèces de *Candida* n'est, la plupart du temps, pas cruciale au niveau clinique pour adapter le traitement antifongique. La sensibilité aux antifongiques est en effet souvent prédite à partir de l'identification de l'espèce, car les champignons sont moins sujets à acquérir des résistances que les bactéries (Tableau 6). Cependant, cette détermination reste importante en termes de santé publique, pour l'épidémiologie des résistances.



Tableau 6 : Spectre antifongique, d'après les données du CNR-MA, non publiées. (14,40)

	Polyènes	Fluconazole	Voriconazole	Posaconazole	Isavuconazole	Candines
<b>Ascomycètes</b>						
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+
<i>C. glabrata</i>	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+
<i>C. krusei</i>	+	-	+	+	+	+
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	+/-
<b>Basidiomycètes</b>						
<i>C. neoformans</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Trichosporon</i>	-	-	+	+	?	-
<i>Rhodotorula</i>	+	-	-	-	?	-
<i>Geotrichum</i>	+	-	+	+	?	-

Au total, le délai entre le prélèvement et le rendu des résultats finaux est d'environ 72h pour les bactériémies. Pour les fongémies, ce délai est allongé par la pousse plus lente des champignons, avec un délai moyen de positivation du flacon de deux à trois jours. (41) Ce délai ne permet, en général, pas d'attendre la documentation microbiologique avant d'introduire un traitement anti-infectieux.

Les hémocultures faussement positives correspondent aux contaminations des flacons d'hémoculture par des germes de la peau ou de l'environnement lors de la réalisation du prélèvement.

Certaines bactéries représentent presque toujours une contamination, comme *Corynebacterium*, *Micrococcus* ou *Cutibacterium acnes*. D'autres sont d'interprétation plus difficile, comme les staphylocoques à coagulase négative, les streptocoques oraux. Le diagnostic de contamination est alors posé *a posteriori* à l'aide d'un faisceau d'arguments clinico-microbiologique en faveur d'une contamination (probabilité pré-test faible, évolution clinique indépendante des mesures prises lors de la suspicion initiale de bactériémie ou fongémie, flacon positif unique, délai de positivité des flacons). (42)

Du point de vue financier, les hémocultures sont peu coûteuses en matériel, une fois que le système d'incubation a été acheté. Le temps technicien requis est en revanche non négligeable et ne permet pas une identification rapide à l'espèce des flacons d'hémoculture positifs en horaire de garde dans de nombreux laboratoires, retardant d'autant l'adaptation de l'antibiothérapie.

## Résumé des pratiques de documentation au CHU Grenoble-Alpes

Capacité d'accueil de 2100 lits.

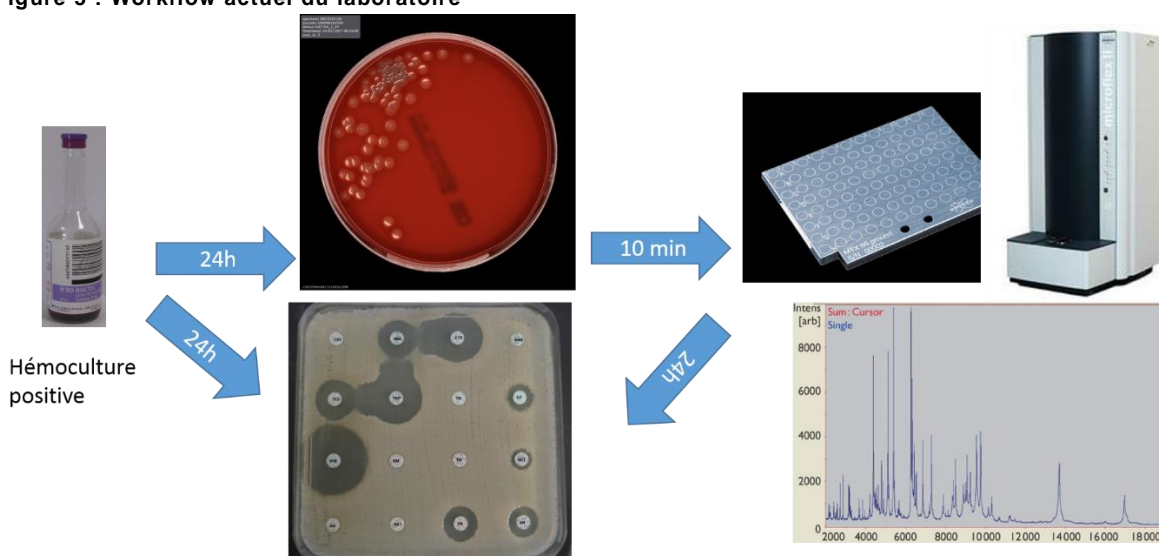
4 services de réanimation adulte, activité de greffe d'organes solides et de cellules souches hématopoïétiques.

En 2017 : 1411 épisodes de bactériémies / fongémies pour 1240 patients.

Système d'hémoculture BD :

Flacons BACTEC Plus Aerobic, BACTEC Lytic/10 Anaerobic, BD BACTEC Pediatric Plus, BACTEC Mycosis ; système automatisé avec monitoring continu BD FX400.

Figure 5 : Workflow actuel du laboratoire



Flacons incubés dès réception au laboratoire 24h/24.

Flacons positifs (7,4% de tous les flacons) pris en charge entre 8h et 22h30 : une coloration de Gram, un examen microscopique et une subculture des flacons sont réalisés.

Ce résultat est transmis par téléphone au service prescripteur et par fichier informatique partagé avec la Consultation Mobile d'Infectiologie et à l'équipe d'Hygiène Hospitalière du CHU.

Identification des bactéries et champignons sur les cultures après 14-48h de pousse, par Bruker MALDI-TOF MS, pouvant être associé à des méthodes phénotypiques ou biochimiques complémentaires (test à l'optochine, galerie API20E, agglutinations, ...).

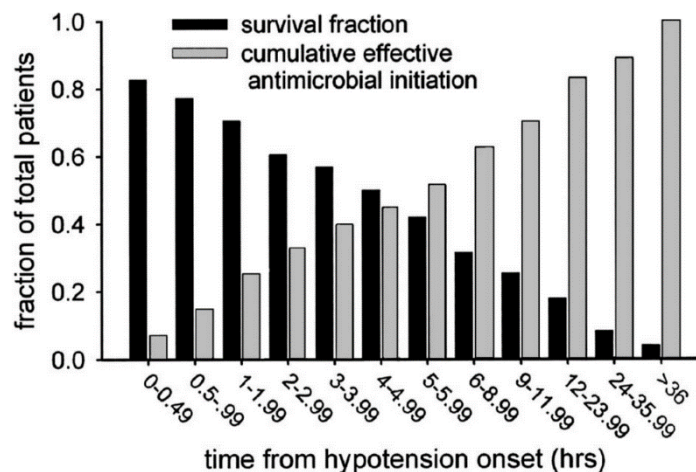
Évaluation de la sensibilité par antibiogramme (directement à partir du flacon pour les BGN et CGP, après subculture pour les autres germes), pouvant être associé à des méthodes complémentaires (pour les carbapénèmes : bandelettes immunochromatographiques K-Set® (Coris), GeneXpert® (Cepheid), Rapidec® Carba NP (Biomérieux); pour la résistance à la méticilline des *Staphylococcus* : PBP2a® (Alere)). (Figure 5)

# Prise en charge des bactériémies et fongémies

## Qui, quoi et quand traiter ?

Devant une suspicion d'infection sans documentation encore disponible, la prise en charge dépend du tableau clinique. Un faisceau d'arguments cliniques doit faire choisir entre le bénéfice individuel en termes de morbi-mortalité à débiter un traitement anti-infectieux efficace, et le risque d'introduire un traitement inutile, qui décapiterait les prélèvements microbiologiques ultérieurs, et alourdirait la pression de sélection de germes résistants dans l'environnement. En cas de signes de sepsis, l'initiation d'un traitement anti-microbien efficace sur le germe qui sera retrouvé dans un second temps, est une urgence thérapeutique. (10) En cas de choc septique, la variable la plus fortement associée à la mortalité est le délai d'introduction d'un traitement anti-microbien efficace, y compris dans les sous-groupes bactériémiques et fongémiques (Figure 6 (43)). (43,44) Sur la base de ces constatations, les recommandations de la campagne « Surviving Sepsis » préconisent une introduction d'anti-infectieux dans la « Golden Hour », l'heure suivant la découverte de l'état de sepsis.

Figure 6 : Mortalité en fonction du délai d'introduction d'un traitement antimicrobien efficace, d'après Kumar et al, 2006



En l'absence de sepsis, mais en cas de suspicion d'infection potentiellement évolutive à court terme ou menaçant le pronostic fonctionnel, une antibiothérapie empirique doit également être débutée rapidement. De même, en cas de fragilité sous-jacente (immunodépression), un traitement empirique bactéricide doit être débuté sans attendre la documentation. Dans les autres cas de suspicion d'infection simple sans point d'appel clinique et sans risque de complication immédiate, le traitement anti-microbien peut être différé jusqu'à obtenir une documentation microbiologique. (45)

## Comment traiter ?

Le choix du traitement « probabiliste », c'est à dire en l'absence de documentation disponible, est guidé par plusieurs déterminants :

- le tableau clinique du patient (gravité, porte d'entrée présumée, symptômes associés)
- le terrain du patient (statut immunitaire, interactions avec d'autres traitements en cours, allergies et intolérances, grossesse, voyage à l'étranger récent, antécédents de traitement anti-infectieux, portage de BMR)
- les caractéristiques épidémiologiques (infection communautaire ou lié au soin, colonisation connue, épidémiologie nationale et locale). Concernant les fongémies, une étude a décrit précisément l'épidémiologie de 6 espèces de *Candida*, en fonction de la maladie sous-jacente, de l'exposition préalable aux antifongiques et du délai de détection du flacon d'hémoculture positif, pouvant aider le clinicien à la décision thérapeutique. (46)
- les données influençant la pharmacocinétique de la molécule chez le patient à traiter (poids, volume de distribution, fonction rénale et hépatique, pénétration tissulaire de la molécule).

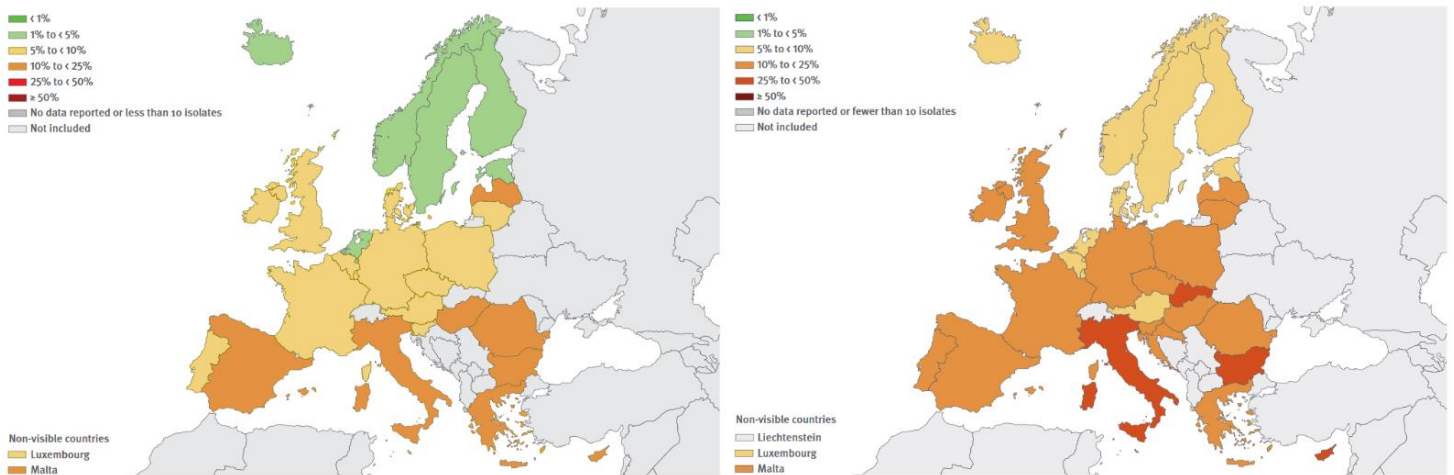
Schématiquement, il faut élargir le spectre d'autant plus que le patient est grave et/ou fragile, et en présence de facteurs de risques de micro-organismes résistants.

Il a été constaté dans une méta-analyse ciblant les infections sévères, que le traitement anti-infectieux empirique est inapproprié dans 14 à 80% (médiane de 49%, Q1-Q3 : 28% à 58%), et que ces situations sont associées à une augmentation de la mortalité à 1 mois. (47) Concernant spécifiquement les bactériémies, l'étude française SPA-BACT a évalué l'antibiothérapie empirique comme appropriée dans seulement 61% des cas. (11)

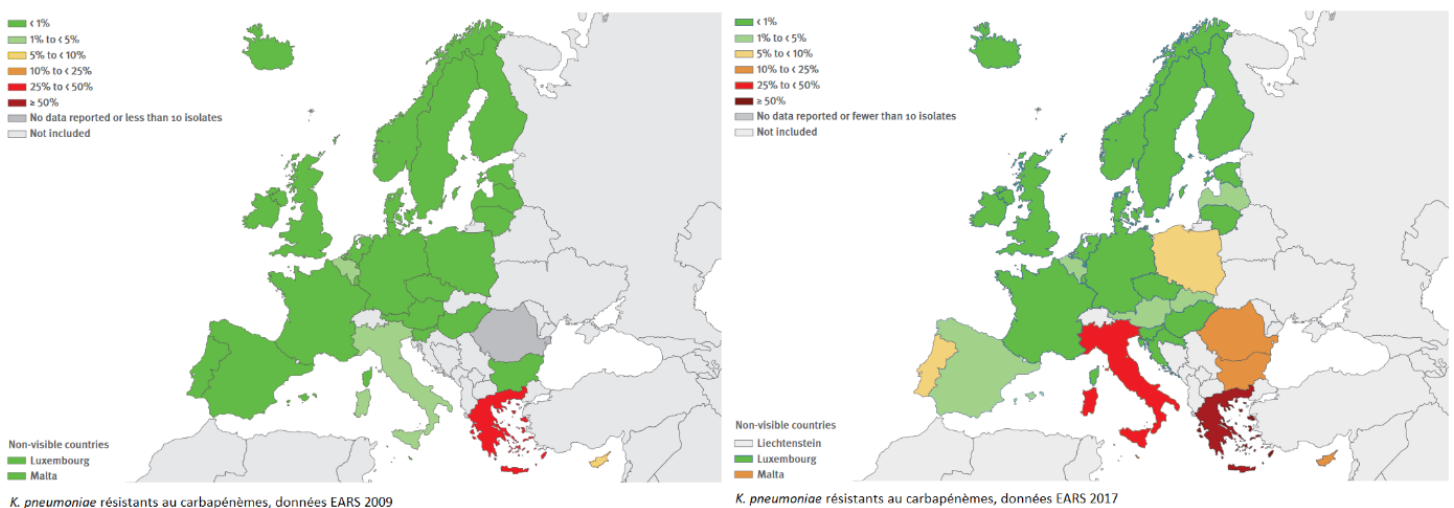
Inversement, une consommation antibiotique inutilement large a pour conséquences individuelles : une altération durable du microbiote, avec les risques de surinfection à *C. difficile* et de sélection de germes résistants (48), et un risque de toxicité pour certaines molécules (ex : toxicité rénale de la vancomycine). Au niveau populationnel, une augmentation de la consommation antibiotique a pour conséquences une intensification de la pression de sélection conduisant à une augmentation de la prévalence des germes résistants dans l'environnement et dans la population. (49)

La décision de traitement empirique est rendue encore plus compliquée par la nature évolutive des résistances bactériennes, et, dans une moindre mesure, fongiques. A la fin des années 2000, le groupe de bactéries « ESKAPE » *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* sp. a été décrit pour la première fois, comme un regroupement de micro-organismes échappant aux antibiotiques, et représentant un paradigme de pathogénie, transmission et résistance. (50)

**Figure 7 : Evolution de la proportion des E. coli résistants aux C3G : en France : 2,5% en 2009 et 15% en 2017, données EARS.**



**Figure 8 : Evolution de la proportion des K. pneumoniae productrices de carbapénémases : en France : 0,2% en 2009 et 0,7% en 2017, en Italie : 1,3% en 2009 et 30% en 2017 d'après les données de l'EARS**



La résistance des entérobactéries aux C3G et aux carbapénèmes est en constante augmentation en Europe (Figures 7,8)

Aujourd'hui, les infections dont les germes du groupe ESKAPE sont responsables ont un impact médico-économique important. Les infections à entérobactéries résistantes aux C3G entraînent une augmentation de la mortalité (1,63 ; 95% IC : 1,13–2,35) et de la durée d'hospitalisation (4,9 jours ; 95% IC : 1,1–8,7). (51) En particulier, il a été estimé que les bactériémies à SARM et à *E. coli* résistant aux C3G dans l'année 2007 ont été responsables de plus de 8000 décès, de plus de 255000 jours d'hospitalisation et de 62 millions d'euros supplémentaires en Europe. (52)

### Vers le bon usage des anti-infectieux

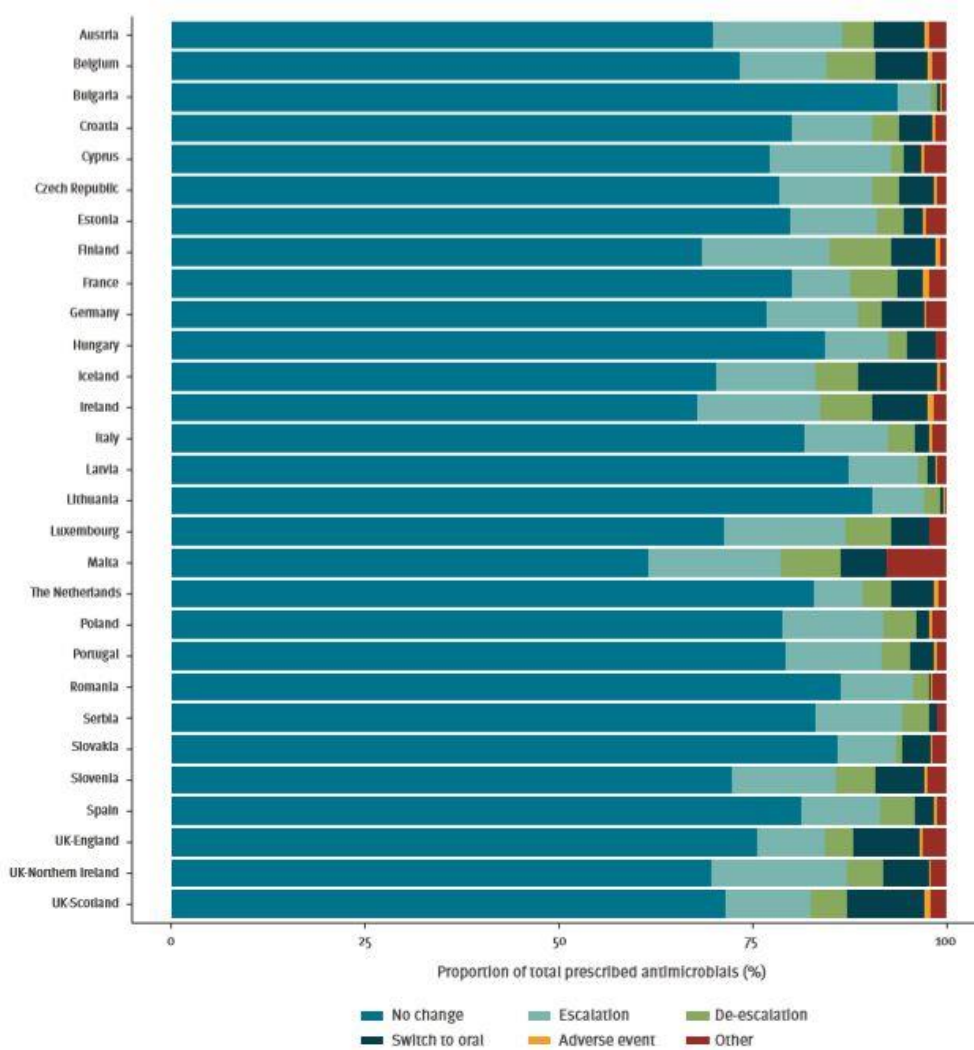
Pour faire face à cette augmentation de la prévalence de certaines résistances aux antibiotiques, l'usage raisonné des anti-infectieux est indispensable, d'autant que le développement industriel de nouvelles molécules anti-infectieuses est limité, lent et coûteux. (53) Le traitement anti-infectieux doit donc être réévalué à chaque étape de la documentation microbiologique : une première fois lors de l'examen direct, puis lors de l'identification de l'agent infectieux, et enfin lors des résultats de la sensibilité aux anti-infectieux, avec différentes options : une escalade, une désescalade, une optimisation ou un arrêt du traitement.

En ce qui concerne spécifiquement la désescalade, une revue systématique de la littérature, comprenant majoritairement des études observationnelles, a montré la non-infériorité d'une désescalade du traitement anti-infectieux, lorsqu'elle est possible, par rapport à un maintien du traitement empirique sur la mortalité. (54) Trois études observationnelles rétrospectives, deux ciblant les BSI communautaires et une les BSI à BGN difficiles à traiter, retrouvent une tendance à la diminution de mortalité et des taux d'échec thérapeutique. (55–57) Un essai randomisé ciblant la désescalade dans les bactériémies à entérobactéries ne montre pas d'effet sur la mortalité, mais une diminution des coûts de traitement et des complications. (58) Une étude observationnelle rétrospective ciblant la désescalade de la caspofungine au fluconazole dans les candidémies ne montre pas de surrisque de mortalité ni de complication. (59) De plus, il a été montré que dans un contexte de bactériémie, la prescription d'une bêta-lactamine anti-*Pseudomonas* pendant plus de 48h est associée à un surrisque d'infection à *C. difficile* (OR 3,38 (95% CI : 1.40-9.47, p=0.006)) (60). Une étude prospective randomisée (SIMPLIFY) est en cours pour

démontrer la non-infériorité d'une désescalade d'un traitement par bêta-lactamine anti-*Pseudomonas* vers un traitement adapté, par comparaison au maintien du traitement empirique dans les bactériémies. (61)

En pratique, la désescalade est rarement réalisée au cours des infection dans les pays européens (Figure 10). (62)

**Figure 9 : Proportion des modifications d'antibiothérapie pendant une infection en cours dans les hôpitaux européens, données EU/EEA et Serbie du groupe Point Prevalence Survey (PPS) pour la période 2016-2017**



En conséquence, l'urgence thérapeutique que constitue le sepsis, l'antibiorésistance croissante, le délai actuel trop important de la documentation des bactériémies et fongémies, et la nécessité d'un bon usage des anti-infectieux, justifient le développement de nouvelles méthodes rapides pour atteindre le plus rapidement possible un traitement considéré comme « adapté ». Ce traitement correspond, selon les recommandations de bon usage, à un traitement anti-infectieux au spectre le moins large possible, et dont la posologie et la durée sont adaptés au germe documenté et

au patient. Il est important de noter que dans les fongémies, la rapidité de la documentation microbiologique est actuellement le seul levier disponible pour améliorer le pronostic (effectifs réduits rendant difficiles les études pour améliorer les critères diagnostic, mauvais rendement des tests diagnostiques actuels, pipeline thérapeutique réduit, vaccins inexistantes). (12,63)



# Méthodes modernes de diagnostic

Depuis quelques années, de nombreuses approches diagnostiques rapides différentes commencent à être utilisées pour accélérer le diagnostic des bactériémies et fongémies. Ces méthodes rapides sont communément définies par l'obtention d'un résultat d'identification et/ou de marqueurs de résistances en moins de 8 heures, permettant leur lancement au moins une fois par jour. (64)

Ces approches se différencient en fonction de :

- la technologie employée (phénotypique, génotypique ou combiné)
- l'identification limitée ou non à certains germes
- la recherche de marqueurs de résistance
- le milieu à partir duquel elles sont réalisées (flacon d'hémoculture positif ou sang total)
- leur intégration dans l'organisation du laboratoire
- leur délai de réalisation technique et leur délai de rendu des résultats
- leur coût variant d'une échelle de 1 à 100 environ.

Il a été démontré que l'implémentation de tests rapides moléculaires, associés à l'intervention d'une équipe de bon usage, permettait de diminuer la mortalité (OR 0.66 ; 95% CI 0.54–0.80) et de diminuer la durée d'hospitalisation de 2,48 jours (95% CI –3.90 - –1.06 jours). (65)

## 1. Méthodes sur sang total

Les caractéristiques et performances des principales méthodes sur sang total dans le Tableau 7.

En s'affranchissant de l'étape de culture préalable à l'identification, les méthodes sur sang total ont pour avantage de ne pas partager les limites inhérentes aux hémocultures (diminution de la sensibilité liée au remplissage insuffisant du flacon, à la nature du germe ou à l'exposition à un traitement anti-microbien préalable). En revanche, la sensibilité de ces tests est encore insuffisante à l'heure actuelle, ou d'interprétation trop aléatoire, notamment en ce qui concerne les contaminants. L'ADN microbien pouvant persister plusieurs jours dans le sang après une infection, un résultat positif (ADN-émie) est également d'interprétation difficile. Ces méthodes ne permettent pas d'envisager pour le moment le remplacement du système d'hémocultures. De plus, le défi que soulèverait le recours à ces méthodes est aussi

d'ordre organisationnel. En effet, l'utilisation de ces méthodes nécessiterait de techniquer tous les flacons reçus au laboratoire, et non plus seulement les flacons positifs (actuellement environ 10% de toutes les flacons). (32)

### **SeptiFast® (Roche Diagnostics, Allemagne)**

Il s'agit d'une méthode d'amplification d'ADN bactérien ou fongique par PCR, couplée à une détection par analyse des courbes de fusion (PCR-HRM). Le panel comporte un nombre limité de pathogènes : 19 bactéries, 6 champignons, et 1 marqueur de résistance (*mecA*). Le pourcentage de concordance avec les hémocultures est mauvais : autour de 65%, mais remonte à 85,5% après exclusion des pathogènes considérés comme contaminants. (66,67).

### **Séquençage**

Le séquençage de nouvelle génération (NGS), visant à analyser la totalité du matériel génétique présent dans un échantillon biologique, n'a pour l'instant été utilisé dans le diagnostic des bactériémies/fongémies (et virémies) qu'à titre expérimental. Il aurait une meilleure sensibilité que les hémocultures, mais souffre d'un long délai de rendu des résultats, d'un coût élevé et de la lourdeur des infrastructures nécessaires à sa mise en œuvre, notamment pour l'analyse bioinformatique des résultats. (68,69)

## *2. Méthodes sur flacons d'hémocultures positifs*

Les caractéristiques et performances des principales méthodes sur flacon d'hémoculture positifs sont listées dans le Tableau 8.

### 2.1. Méthodes d'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF

#### **Bruker® Sepsityper (Bruker Daltonics, USA), techniques maison et subculture rapide**

Le principe de la spectrométrie de masse MALDI-TOF a été décrit en détail dans le chapitre « Documentation microbiologique ». Elle est basée sur la détection d'un profil masse/charge unique, permettant de détecter un nombre illimité de micro-organismes. Elle est utilisée largement en routine pour identifier les micro-organismes à partir de subcultures.

L'identification bactérienne à partir d'un culot de 1mL du flacon d'hémoculture positif a montré de bonnes performances (Tableau 8), sauf pour les bactéries à Gram positif,

dont les taux d'identification fiables à l'espèce restent entre 60 et 80% selon les protocoles. (70)

Différentes techniques maison, ainsi que le kit commercial Bruker® Sepsityper (Bruker Daltonics) sont retrouvés dans la littérature.

Cette méthode nécessite entre 10 et 30 min de temps technicien (plusieurs étapes manuelles de purification, centrifugation et lavage) le plus souvent. Elle ne permet pas d'identifier les germes présents dans les échantillons polymicrobiens et n'apporte aucune information sur la sensibilité aux antibiotiques des bactéries.

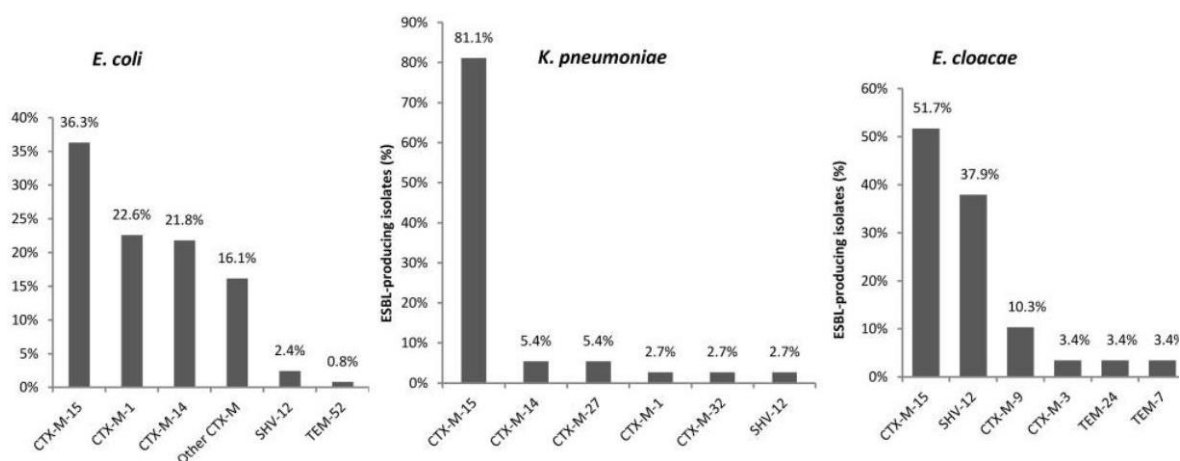
L'identification rapide des bactéries responsables de bactériémies est également possible après subculture rapide sur milieu gélosé, qui permet une identification de plus de 90% des BGN en 4h et de plus de 90% des CGP en 8h, mais retarde d'autant le rendu de l'identification. (71)

## 2.2. Méthodes de détection de l'ADN bactérien ou fongique (méthodes génotypiques) spécifique de cible

Ces méthodes recherchent un ou plusieurs pathogènes spécifiques, ainsi que certains gènes de résistance, à l'aide de sondes nucléotidiques spécifiques.

Cela rend la technique plus rapide et moins chère que le séquençage NGS, mais limite le nombre de micro-organismes pouvant être identifiés et assujetti les performances du test aux variations épidémiologiques des bactériémies et fongémies. En particulier, les mécanismes de résistances acquis par transfert de gènes de résistances via des plasmides ont le potentiel de pouvoir rapidement diffuser au sein des bactéries pathogènes. A titre d'exemple, les BLSE prédominantes il y a 10 ans étaient de type SHV et TEM, avant d'être remplacées par les BLSE de type CTX-M (Figure 10). (72)

Figure 10 : Proportion de chaque type de BLSE en fonction de l'espèce, d'après Robin et al



Une évolution des cibles recherchées en corrélation avec les variations épidémiologiques des bactériémies et fongémies et des mécanismes de résistance doit donc avoir lieu au cours du temps.

### 2.2.1. Amplification d'acide nucléique par PCR

La PCR est une technique permettant d'amplifier et de détecter une ou plusieurs séquences d'ADN caractéristiques du pathogène à identifier. Au cours d'une PCR, après extraction, l'ADN bicaténaire est dénaturé thermiquement, puis un couple d'amorce s'hybride par complémentarité avec la séquence à amplifier, et une ADN polymérase vient synthétiser le brin complémentaire. Deux nouveaux brins sont ainsi obtenus. Ce cycle est répété n fois dans un thermocycleur.

La détection de la séquence amplifiée se fait le plus souvent par des rapporteurs fluorescents. Cette approche peut être multiplexée, pour permettre d'amplifier plusieurs cibles génétiques différentes au cours d'une même réaction. L'identification des séquences amplifiées est alors généralement limitée par le nombre de fluorophores disponibles. Ce problème peut être résolu en couplant l'amplification avec d'autres techniques, telles que l'analyse des courbes de fusion, la séparation physique des PCR en plusieurs puits ou la spectrométrie de masse.

Le facteur limitant principal est l'épuisement des réactifs. En cas de PCR multiplexe, il peut y avoir une inhibition compétitive entre les cibles, limitant leur identification.

#### **PCR multiplexe ePlex®-BCID (GenMark Diagnostics, USA)**

Cf. Chapitre « Méthode à l'étude »

Cette PCR est le sujet de notre étude et sera détaillée davantage dans un chapitre ultérieur. Il s'agit d'une plateforme totalement automatisée permettant, dans une cartouche unitaire, une extraction automatisée, une amplification par PCR multiplexe, et une détection par signal électrique. Le panel des cibles recherchées comprend 41 bactéries, 15 levures et 10 marqueurs de résistance.

#### **PCR multiplexe FilmArray® BCID (Biomérieux, France)**

Il s'agit d'une plateforme automatisée, concurrente principale, à l'heure actuelle, de la méthode ePlex®. La méthode comprend une extraction automatisée, une amplification par PCR nichée et une détection par analyse des courbes de fusion. Le panel

comprend 19 bactéries, 5 levures et 3 marqueurs de résistance (Tableaux 9-11 comparant les panels ePlex® et FilmArray®).

### 2.2.2. Hybridation par fluorescence in-situ (FISH)

Cette technique utilise des sondes oligonucléotidiques marquées avec un fluorophore, complémentaires d'une région spécifique du génome du microorganisme recherché (sondes universelles pan-bactériennes 16S, ou pan-fongiques 18S ; ou sondes spécifiques d'espèces).

La manipulation est aussi simple qu'une coloration de Gram, mais la lecture nécessite l'utilisation d'un microscope à fluorescence. La détection de fluorescence est réalisée sous microscope à fluorescence après un temps nécessaire à l'appariement des sondes avec les pathogènes à identifier (30min à 2h30 selon la technique).

Ses deux limites principales sont : un panel de germes détectables réduit au nombre de fluorophores qui peuvent être différenciés par l'œil humain ; une absence d'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux.

#### **PNA FISH® et QuickFISH®, (Opgen, USA)**

Cinq kits, comportant en tout 10 cibles d'identification à l'espèce et 3 cibles d'identification au genre, sont commercialisés par AdvanDx, Opgen Inc. : *Staphylococcus aureus* / CoNS ; *Enterococcus faecalis* / autres entérocoques ; GNR Traffic Light : *E. coli* / *K. pneumoniae* / *P. aeruginosa* ; *Candida albicans* / autres candida ; *C. albicans* / *C. glabrata* ; Yeast Traffic Light : *C. albicans* / *C. glabrata* / *C. tropicalis* / *C. parapsilosis* / *C. krusei*.

Cette technique a été validée cliniquement depuis la fin des années 2000 (à noter, qu'à cette époque, le MALDI-TOF n'était pas la méthode de référence pour l'identification dans la plupart des études).

Elle reste intéressante pour les centres dépourvus de MALDI-TOF. Par exemple, l'implémentation de l'EF/OE PNA FISH en complément de l'identification par Vitek2 a permis, pour les bactériémies à entérocoque : d'accélérer l'identification de 2,6 jours ( $P < 0,001$ ), de diminuer le délai d'introduction d'une antibiothérapie adaptée en moyenne de 1,8 jours ( $P < 0,001$ ) pour les bactériémies à *E. faecium* et de diminuer la mortalité à J30 (26% vs. 45% ;  $P = 0,04$ ) pour les bactériémies à *E. faecium*. (73)

### **Accelerate Pheno® (Accelerate Diagnostics, Inc., USA)**

Il s'agit d'une plateforme de diagnostic rapide, combinant identification par méthode FISH (16 micro-organismes) et évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux par analyse cellulaire morphocinétique (vidéomicroscopie). L'identification est réalisée en 90min et l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux en 7h. L'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux dans les prélèvements polymicrobiens ne peut pas être réalisée.

En condition de laboratoire, la sensibilité, la spécificité et la concordance globale de l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux ont été rapportées comme excellentes (respectivement 95,6%, 99,5% et 95,1%). (74) En revanche, en condition clinique, en comptant les résultats hors-panel, les résultats d'identification indéterminés et les tests de sensibilité aux antibiotiques erronés, le pourcentage d'identification correcte tombe à 62,5% (173/277) et d'antibiogramme correct tombe à 48% (133/277). (75)

Les performances sont notamment mauvaises sur l'identification des hémocultures polymicrobiennes avec 12,5% (3/24) d'identification correcte (75), et sur l'évaluation de la sensibilité aux bêta-lactamines, notamment chez *P. aeruginosa* (concordance globale de la sensibilité au cefepime = 33,3%, à la piperacilline-tazobactam = 77,8%, à la ceftazidime = 0%).(76)

#### 2.2.3. DNA microarrays

Cette méthode est basée sur l'hybridation de l'ADN des pathogènes recherchés sur des séquences oligonucléotidiques immobilisées sur un support solide, permettant la détection simultanée de plusieurs cibles, sans mécanisme d'inhibition compétitive en cas de prélèvement polymicrobien.

### **Verigene® (Luminex Corp., USA)**

Le panel comporte 21 bactéries et 8 marqueurs de résistance.

Les paramètres microbiologiques ont été rapportés comme bons, avec une sensibilité de 81-100%(77), sauf sur les streptocoques, où *S. mitis* est confondu avec *S. pneumoniae* ; et sur les prélèvements polymicrobiens (concordance 75% contre 96% pour les mono-microbiens). (78)

Tableau 7 : Méthodes sur sang total

Nom	Technologie	Cibles bactériennes / fungiques	Performances (comparé aux hémocultures)	Temps technicien	Durée	Prix
<b>LightCycler® SeptiFast, Roche, Suisse (66,67,79)</b>	PCR multiplexe-HMR	- 10 GN - 9 GP - 6 champignons - <i>mecA</i>	Se = 83-90% Sp = 73% Concordance ≈ 65% Seuil de détection 3-100CFU/mL	3h	6h	NA
<b>Magicplex® Sepsis Real-Time Test, Seegene, Corée (80,81)</b>	PCR multiplexe	- 90 bactéries au genre - 27 à l'espèce - <i>mecA, vanA/B</i>	Se = 37-65% Sp = 66-92%	NA	3-6h	NA

Tableau 8 : Méthodes sur hémocultures positives

Nom	Technologie	Cibles bactériennes / fungiques	Performances	Temps technicien	Durée	Prix
<b>ePlex® BCID (GenMark Diagnostics, Inc. USA) (82)</b>	Plateforme automatisée de PCR multiplexe	3 panels : - 20 GP - 21 GN - 15 levures (FP) - 10 marqueurs de résistance <i>mecA/C, vanA/B, CTX-M, NDM, VIM, IMP, OXA, KPC</i>	Concordance germes du panel vs. culture = 96% (89/93) panel GP ; 94% (115/122) panel GN <sup>1</sup>	2min	1h30	€€ <sup>2</sup>
<b>PNA-FISH® et Quick-FISH® (AdvanDx, OpGen, Inc., USA) (83-89)</b>	FISH	5 kits (Cf. détails dans le paragraphe dédié)  0 marqueur de résistance	Se = 90-100% Sp = 100% <sup>1</sup> Seuil de détection 10 <sup>5</sup> UFC/ml	10min	PNA : 2h30 Quick : 30min	€€
<b>Accelerate Pheno®, Accelerate Dx, USA (75)</b>	Plateforme automatisée : identification par FISH, AST par microscopie digitale.	- 6 GP - 8 GN - 2 candida Antibiogramme complet	Concordance globale : Identification = 62,5% (173/277) Antibiogramme = 48% (133/277)	2min	Identification : 90min AST : 7h	€€€

<sup>1</sup> Performances calculées uniquement sur les germes présents sur les panels.

<sup>2</sup> € : 0-100€ par test ; €€ 100-200€ par test ; €€€ 200-300€.

<b>Verigene®, Luminex, USA (77)</b>	Plateforme automatisée de DNA-microarrays	- 12 GP - 9 GN - <i>mecA</i> , <i>vanA/B</i> , <i>CTX-M</i> , <i>NDM</i> , <i>VIM</i> , <i>OXA</i> , <i>KPC</i>	Se = 81-100% Sp = 98%	NA	2h30	€€€
<b>FilmArray® BCID, (BioFire Dx/bioMérieux, France) (90) (91)</b>	Plateforme automatisée de PCR multiplexe	- 8 GP - 11 GN - 5 candida - 3 marqueurs de résistance <i>mecA</i> , <i>vanA/B</i> , <i>KPC</i>	Se > 96% Concordance germes du panel vs. culture = 97,1%	2min	1h	€€
<b>Bruker® Sepsityper kit, (Bruker Daltonics)</b>	MALDI-TOF MS	Universel 0 marqueur de résistance	Identification correcte vs. culture GN = 92% GP = 72%	10-30min	10min	€



Hormis les méthodes par MALDI-TOF et par FISH, toutes ces méthodes rapides manquent d'évaluation clinique rigoureuse, et cela même malgré leur marquage CE-IVD ou leur approbation par la FDA. (92,93) Les critères STARD ont ainsi été définis par l'OMS, pour donner une ligne directrice aux études évaluant ces nouvelles méthodes de diagnostic rapide. (94)

Cette évaluation est rendue difficile du fait de la diversité de techniques différentes, des différences d'épidémiologie et des différences d'organisation du laboratoire entre les sites testeurs.

Il faut souligner le fait que le système d'hémoculture, comparateur de référence, n'est pas infaillible. Les discordances entre les résultats des méthodes rapides et ceux basés sur la culture posent parfois de réels problèmes d'interprétation, nécessitant la mettre en œuvre d'autres techniques pour résoudre ces discordances.

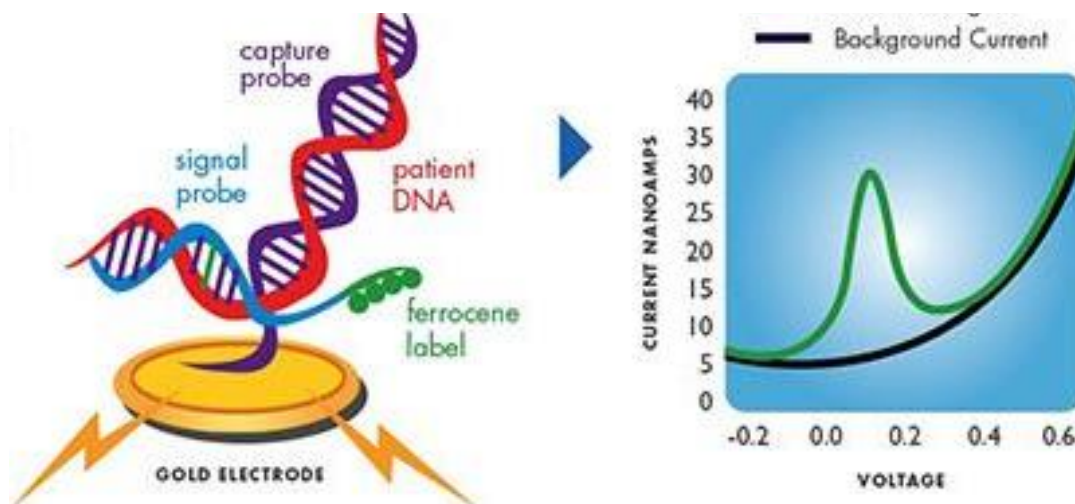
## Technologie à l'étude : ePlex®-BCID, GenMark

Le test ePlex®-BCID, GenMark, mis sur le marché en 2019 dans sa version actuelle, est une méthode de diagnostic moléculaire basée sur une PCR multiplexe qualitative, réalisée à partir du flacon d'hémoculture positif.

### La technologie ePlex®

Cette technologie combine le principe d'une PCR multiplexe, à la miniaturisation du système permis par l'apport de la microfluidique. Toutes les étapes de la PCR (extraction de l'ADN, amplification, détection) sont réalisées au sein d'une cartouche à usage unique. Le mouvement des fluides à l'intérieur de la cartouche repose sur une technologie appelée « electrowetting », une technologie microfluidique permettant de contrôler le déplacement de micro-gouttes de réactif et de sang à l'intérieur du système par modifications de champ électrique sur une surface hydrophobe. La détection des amplicons utilise également une technologie originale brevetée par la société GenMark et appelée « eSensor », permettant de s'affranchir de l'utilisation de fluorophores. Dans ce système, les brins d'ADN bactérien ou fongique préalablement amplifiés viennent s'hybrider sur une première « sonde de capture » spécifique du pathogène ciblé et fixée sur une électrode en or. Une deuxième sonde spécifique, la « sonde signal », marquée avec une molécule de ferrocène, vient s'hybrider à la séquence d'ADN cible du pathogène. L'interaction du ferrocène avec l'électrode en or produit un courant électrique détecté par le système. Le signal dépend donc d'une double hybridation, augmentant la spécificité de la détection.

Figure 11 : La technologie eSensor



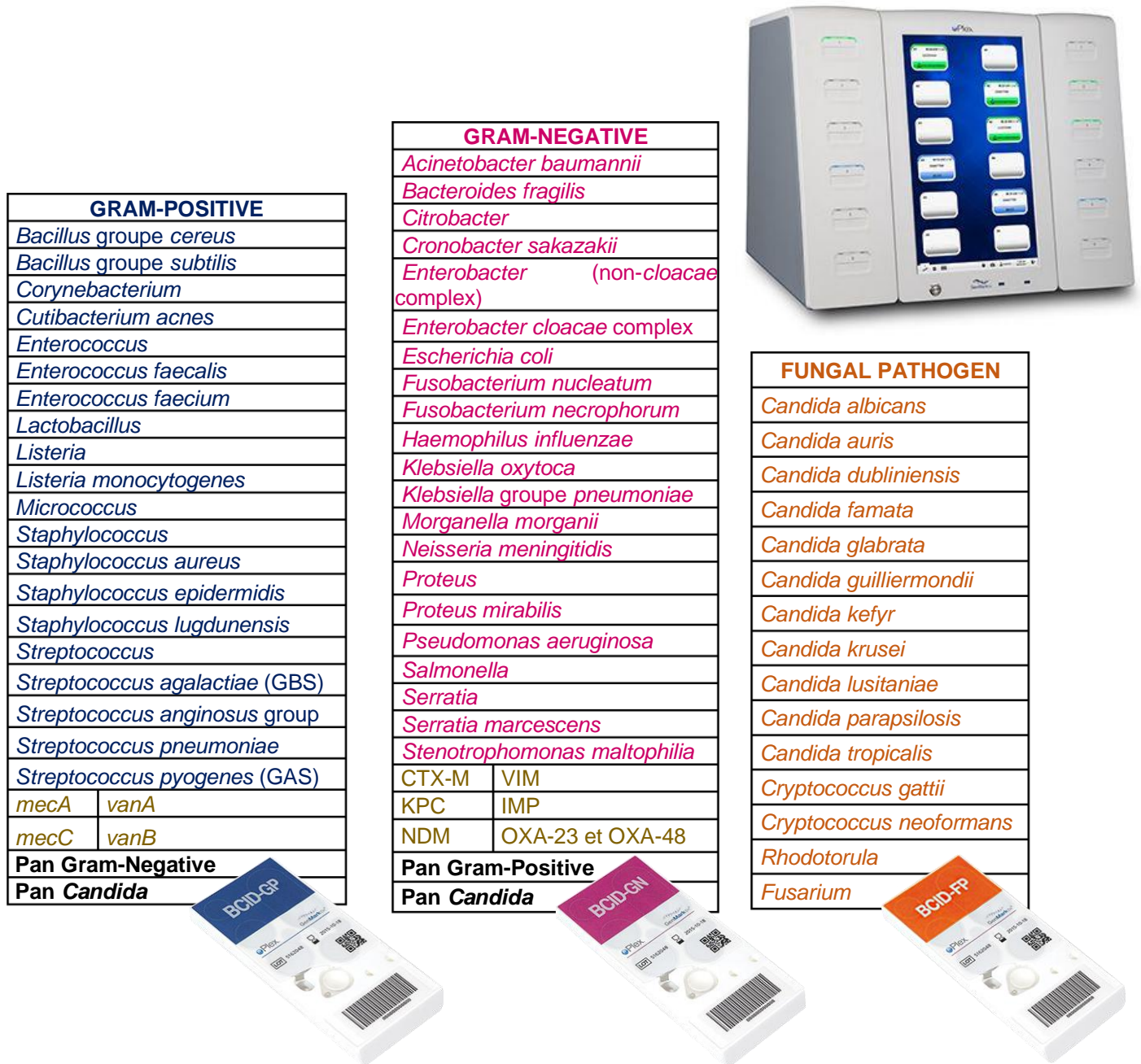
Ce système est complètement automatisé et fermé. Il n'y a pas de manipulation supplémentaire à faire entre le dépôt de sang d'hémoculture positive dans la cartouche et le rendu des résultats, réduisant le risque de contamination et limitant le temps technique à son minimum.

Comme dans tout système automatisé, des contrôles positifs sont présents dans chaque cartouche.

En pratique, ce test ne requiert qu'un temps très réduit de formation et sa réalisation pratique prend également très peu de temps (1 à 2 min). En pratique, le test consiste à déposer 50µL du flacon d'hémoculture à tester dans la cartouche choisie, avant de l'insérer dans l'automate. Les résultats sont visualisables 1h30 plus tard sur l'automate, avec possibilité de le relier au Système Informatique des Laboratoires.

## Les panels

Figure 12 : Les trois panels ePlex®-BCID : GP (Gram Positif), GN (Gram Négatif) et FP (Fungal Pathogène : Fongique)



Les cibles des panels ont été testées par le fabricant lors du développement.

Elles ont obtenu le marquage CE-IVD en 2017 puis en 2018 suite à de légères modifications des panels.

Les cartouches que nous avons testées dans cette étude étaient les cartouches Research Use Only (RUO), qui ont par la suite été légèrement modifiées avant leur mise sur le marché. Par rapport à la version RUO, les cibles *Malassezia furfur* et

*Trichosporon* ont été supprimées, et la cible *Candida auris* a été ajoutée. Les seuils de détection de *Stenotrophomonas maltophilia* et des marqueurs pan-GP et pan-GN ont également été revus.

Les cibles universelles (Pan-GP, Pan-GN, Pan-Candida) présentes dans les cartouches GP et GN ont été désignées pour pallier les éventuelles erreurs de l'examen microscopique.

La cible Pan-GN détecte l'ADN16S des bactéries à Gram négatif et doit permettre à minima les détections des genres *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Neisseria*, *Stenotrophomonas* et *Pseudomonas*, et des bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*.

La cible Pan-GP détecte les *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Bacillus* groupe *cereus*, *Bacillus* groupe *subtilis*, et *Enterococcus*.

La cible Pan-Candida détecte les 4 espèces les plus fréquemment en cause dans les fongémies : *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, et *C. krusei*.

#### Analyse de la pertinence des panels ePlex®-BCID

La plupart des cibles détectées correspondent à des pathogènes fréquemment responsables de bactériémies et fongémies. Ainsi, ce test a le potentiel de couvrir à l'espèce plus de 70% et au genre plus de 90% des épisodes de bactériémies et fongémies de notre CHU (selon l'épidémiologie locale rapportée dans les Données Bibliographiques).

Les marqueurs de résistance recherchés sont tous d'intérêt clinique majeur, car ils peuvent à eux seuls faire modifier l'antibiothérapie lorsqu'ils sont présents. De plus, leur mise en évidence nécessite de prendre des mesures d'hygiène : isolement du patient porteur et parfois dépistage des patients contact.

Certaines identifications n'ont pas d'impact direct sur la prise en charge, mais ont le mérite de conforter le clinicien dans sa prise en charge.

Comparé au panel BCID-FilmArray®, principal concurrent, le panel ePlex-BCID® est plus large. Les tableaux 9-11 détaillent les différences entre les deux panels.

En particulier les cibles suivantes sont absentes du panel FilmArray® : *E. faecalis* et *faecium*, entérobactéries du groupe 3 des genres *Citrobacter*, et *Morganella*, *S. maltophilia*, *Cryptococcus*, et plusieurs marqueurs de résistance (CTX-M, carbapénémases de type OXA et métallo-β-lactamases).

- Analyse du panel Gram Positif :

Tableau 9 : Comparaison des panels Gram Positif FilmArray® et ePlex® et implications cliniques

	FilmArray® BCID, BioMérieux	ePlex® BCID, GenMark	Impact clinique possible de l'identification rapide	
<b>Bactéries Gram Positif</b>		<i>Bacillus</i> groupe <i>cereus</i>	- Contamination → arrêt de l'antibiothérapie. - Bactériémie chez l'immunodéprimé et l'usager de drogue IV → FQ et doxycycline habituellement sensibles. Résistance naturelle aux bêta-lactamines dont céphalosporines	
		<i>Bacillus</i> groupe <i>subtilis</i>	Contamination → arrêt de l'antibiothérapie.	
		<i>Corynebacterium</i> sp.	- Contamination → arrêt de l'antibiothérapie - Infection de cathéter ou matériel → retrait du cathéter. FQ, linezolid, vancomycine, teicoplanine habituellement sensibles.	
		<i>Cutibacterium</i> <i>acnes</i>	- Contamination → arrêt de l'antibiothérapie - Infection de matériel → amoxicilline, céphalosporines et FQ habituellement sensibles.	
		<i>Enterococcus</i> sp.	Résistance naturelle aux céphalosporines. → Désescalade à l'amoxicilline (100% de sensibilité).	
		<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>	→ Optimisation par vancomycine ou daptomycine (80% de résistance aux pénicillines).	
		<i>Enterococcus</i> <i>faecium</i>	- Contamination → arrêt de l'antibiothérapie. - Infection digestive ou génitale haute → Traitement empirique sur avis infectiologique et microbiologique (sensibilité aux antibiotiques variable en fonction de l'espèce).	
		<i>Listeria</i> sp.		
		<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	Infections graves de la grossesse (MFIU), méningo-encéphalite → désescalade par amoxicilline.
			<i>Micrococcus</i> sp.	Contamination → arrêt de l'antibiothérapie.
		<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Staphylococcus</i> sp.	
		<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	Facteur de risque de mortalité par bactériémie. → Pénicilline M ou cefazoline / vancomycine ou daptomycine en fonction du risque de SARM. Recherche de porte d'entrée et de localisation secondaire (endocardite infectieuse). Contrôle des hémocultures.
			<i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i>	- Contamination → arrêt de l'antibiothérapie. - Infection de cathéter → ablation ou verrou de vancomycine sur le cathéter, contrôle des hémocultures.

			Méticilline-résistance fréquente. Optimisation par daptomycine ou vancomycine.
		<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	Virulence comparable à celle du SAMS
	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Streptococcus</i> sp.	
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Infection digestive ou génitale haute → optimisation par amoxicilline.
		<i>Streptococcus</i> groupe <i>anginosus</i>	→ optimisation par amoxicilline.
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	= Infection invasive à pneumocoque. - Pneumonie → amoxicilline. - Méningite → C3G IV dose méningée.
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Recherche de porte d'entrée cutanée (dermo-hypodermite bactérienne nécrosante) → indication chirurgicale. Amoxicilline +/- clindamycine a visée anti-toxinique. DO et mesures d'hygiène, dépistage et traitement des sujets contact.
<b>Marqueurs de résistance</b>	<i>mecA</i>	<i>mecA/C</i>	<b>ISOLEMENT</b> = Résistance à la méticilline chez <i>Staphylococcus</i> sp. → daptomycine, vancomycine, voire ceftaroline ou ceftobiprole sur avis infectiologique si un autre foyer infectieux est suspecté = Résistance aux glycopeptides chez <i>Enterococcus</i> sp. → optimisation par daptomycine, linezolid
	<i>vanA/B</i>	<i>vanA/B</i>	

\*NB : L'analyse de la pertinence de ce panel dépend de l'épidémiologie locale des bactériémies et fongémies et de la prévalence locale des résistances. Les propositions thérapeutiques faites dans ce tableau prennent en compte ces paramètres pour le CHU de Grenoble Alpes mais ne sont pas toutes transférables à d'autres centres hospitaliers

La mise en évidence du gène *mecA/C* chez un *Staphylococcus* signe une résistance à la méticilline par acquisition d'une nouvelle PLP (PLP2a). Chez *S. aureus*, on peut rarement observer une résistance de bas niveau à la méticilline s'exprimant en l'absence du gène *mecA/C*, par pénicillinase hyper-produite (BORSA) ou par autre modification des PLP non médiée par *mec* (MODSA).

La mise en évidence du gène *vanA/B* chez un *Enterococcus* signe une résistance aux glycopeptides par modification de la cible. Cette résistance reste rare (< 1% en France). Très exceptionnellement, une souche d'*Enterococcus* peut être résistante aux glycopeptides en l'absence du gène *vanA/B*.

Il n'existe à ce jour aucun test moléculaire prédictif d'une sensibilité diminuée aux pénicillines chez *Streptococcus* sp., qui est le résultat de modifications quantitatives et qualitatives des PLP médiée par des gènes mosaïques.

- Analyse du panel Gram Négatif :

Tableau 10 : Comparaison des panels Gram Négatif FilmArray® et ePlex® et implications cliniques

	FilmArray® BCID, BioMérieux	ePlex® BCID, GenMark	Impact clinique possible de l'identification rapide
<b>Bactéries Gram Négatif</b>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Considérer une bi-antibiothérapie Impénème +/- aminoside.
		<i>Bacteroides fragilis</i>	Infection digestive → amoxicilline-clavulanate ou metronidazole. Résistance naturelle aux céphalosporines.
		<i>Cronobacter sakazakii</i>	Rare. Infections sévères des âges extrêmes.
		<i>Citrobacter</i> sp.	Fait suspecter un <i>C. freundii</i> (entérobactérie groupe 3) → escalade par cefepime.
	<i>Enterobacteriaceae</i>		Discrimination des entérobactéries et des BGN non fermentant ( <i>P. aeruginosa</i> et apparentés).
	<i>Enterobacter</i> complexe <i>cloacae</i>	<i>Enterobacter non complexe cloacae</i> <i>Enterobacter</i> complexe <i>cloacae</i>	Entérobactérie du groupe 3 → escalade par cefepime.
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Infection urinaire ou digestive → C3G IV.
		<i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Fusobacterium necrophorum</i>	Infection gynécologique ou ORL → amoxicilline-clavulanate. Recherche de localisations secondaires.
	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	Infection pulmonaire ou ORL → C3G IV.
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Infection pulmonaire, digestive ou urinaire → C3G IV.
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Infection pulmonaire, digestive ou urinaire → C3G IV
		<i>Morganella morganii</i>	Entérobactérie groupe 3 → escalade par cefepime.
	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Mortalité importante. Purpura fulminans ou de méningite → C3G IV dose méningée en urgence.
	<i>Proteus</i> sp.	<i>Proteus</i> sp.	→ C3G IV.
		<i>Proteus mirabilis</i>	→ C3G IV.
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	→ Piperacilline-tazobactam ou cefepime.
		<i>Salmonella</i> sp.	Fièvre typhoïde si retour de voyage → ceftriaxone forte dose (2x 2g/J).
	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia</i> sp. <i>Serratia marcescens</i>	Entérobactérie groupe 3 → escalade par cefepime.
		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	→ Bi-antibiothérapie cotrimoxazole forte dose + levofloxacine.
	<b>Marqueurs de résistance</b>		CTX-M
KPC		KPC OXA-23 et OXA-48	ISOLEMENT Marqueurs de carbapénémases → Avis infectiologique. Bithérapie ou trithérapie. CMI ceftazidime-avibactam et ceftolozane-tazobactam.
		VIM, IMP, NDM	



\*NB : L'analyse de la pertinence de ce panel dépend de l'épidémiologie locale des bactériémies et fongémies et de la prévalence locale des résistances. Les propositions thérapeutiques faites dans ce tableau prennent en compte ces paramètres pour le CHU de Grenoble Alpes mais ne sont pas toutes transférables à d'autres centres hospitaliers

Nous regrettons l'absence de la cible pan-*Enterobacteriaceae*, comme dans le panel FilmArray®, qui permet la différenciation entre les BGN entérobactéries et les BGN non fermentant, ces derniers possédant des profils de résistance particuliers aux bêta-lactamines.

En ce qui concerne l'interprétation des marqueurs de résistance :

La mise en évidence du gène *bla*<sub>CTX-M</sub> signe une résistance de type BLSE. Il s'agit d'une bêta-lactamase de classe A, codée par un gène plasmidique. CTX-M représente 90% des BLSE chez les entérobactéries en France, avec une répartition variable en fonction de l'espèce. D'autres gènes de BLSE, minoritaires, existent (TEM, SHV mutées ; OXA, PER, GES, VEB...). SHV est surtout associé aux *E. cloacae* (95)

Les BGN non fermentant (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomas*) peuvent être porteurs de toutes ces types de BLSE, mais cela reste exceptionnel. L'absence de CTX-M ne doit pas être interprétée comme une sensibilité de la souche aux C3G. (96)

D'autres mécanismes de résistance enzymatiques aux C3G existent : les céphalosporinases dérégulées, retrouvées fréquemment chez les entérobactéries du groupe 3 (*Enterobacter* sp, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*). Ce mécanisme est la conséquence d'une induction par une monothérapie par  $\beta$ -lactamine de la céphalosporinase chromosomique AmpC. De plus, des mécanismes de résistance aux C3G non enzymatiques existent : imperméabilité, pompe d'efflux, modification de la cible.

- Les marqueurs de carbapénémase OXA-23 et -48, KPC, VIM, IMP et NDM couvrent plus de 95% des carbapénémases isolées au CHU Grenoble-Alpes. (Cf. Données épidémiologiques)

- Analyse du panel fongique FP :

La mise en évidence de levures à l'examen direct n'est jamais considérée comme une contamination.

Les candines (caspofungine, mycafungine) sont recommandées en première intention du fait de la fréquence des levures responsables de fongémies qui y sont sensibles.

Cependant, l'épidémiologie des candidémies varie en fonction de la pré-exposition du patient aux antifongiques. (97)

De plus, les basidiomycètes, en majorité résistants aux candines, ne sont pas distingués des ascomycètes à l'examen direct.

Une revue d'expert du panel fongique ePlex® a déjà été publiée récemment par le laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU Grenoble Alpes. (98)

**Tableau 11 : Comparaison des panels fongiques FilmArray® et ePlex® et implications cliniques**

<b>FilmArray® BCID, BioMérieux</b>	<b>ePlex® BCID, GenMark</b>	<b>Impact clinique possible de l'identification rapide</b>
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	Infection urinaire, digestive ou cathéter → Optimisation au fluconazole à forte dose si non neutropénique et non grave.
	<i>Candida auris</i>	« Fungal SuperBug » émergent → Isolement. Traitement empirique sur avis infectieux spécialisé.
	<i>Candida dubliniensis</i>	→ Désescalade au fluconazole à forte dose si non neutropénique et non grave.
	<i>Candida famata</i>	→ Considérer une optimisation par amphotéricine B liposomale.
<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	Facteur protecteur de mortalité. Résistance fréquente au fluconazole.
	<i>Candida guilliermondii</i>	Absence de breakpoint clinique défini : antifongigramme inutile au clinicien.
	<i>Candida kefyr</i>	Facteur de risque de mortalité par fongémie.
<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>	Facteur de risque de mortalité par fongémie.
	<i>Candida lusitanae</i>	→ Optimisation au fluconazole à forte dose si non neutropénique et non grave.
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	Facteur protecteur de mortalité par fongémie → Sensibilité inconstante aux candines. Optimisation par fluconazole ou amphotéricine B liposomale si EI associée.
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	→ Optimisation au fluconazole à forte dose si non neutropénique et non grave.
	<i>Cryptococcus gattii</i>	<i>C. neoformans</i> : cryptococcose neuro-méningée (immunodéprimé) ; <i>C. gattii</i> : responsable de quelques épidémies d'IFI chez l'immunocompétent en Amérique du Nord (99) Résistance aux candines → amphotéricine B liposomale + 5FC en première intention.
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	
	<i>Fusarium</i>	Résistance aux candines → voriconazole en première intention.
	<i>Fusarium solani</i>	Absence de breakpoint clinique défini : antifongigramme inutile au clinicien.
	<i>Rhodotorula</i>	Résistance aux candines et au fluconazole → avis infectieux spécialisé.
	<i>Trichosporon</i>	Résistant aux candines, à l'amphotéricine B, au fluconazole, au 5FC → avis infectieux spécialisé.

#### Impact des résultats hors-panel :

Une étude clinique rétrospective s'est intéressée spécifiquement à l'impact clinique des résultats hors-panels du test FilmArray®. Alors que la majorité des germes aérobie hors-panel sont des contaminations, les germes anaérobies hors-panel sont liés à des

infections avérées, volontiers d'origine indéterminée, digestive ou génitale. Par rapport aux infections à germes présents sur le panel, le traitement post-test des infections à germes hors-panel est plus souvent inadapté par rapport au traitement des infections à germe présents dans le panel (28/34 [82%] vs. 618/646 [96%],  $p=0.0048$ ), soulignant l'importance d'un diagnostic rapide notamment des hors-panel anaérobies. (100) Il est important de noter que la moitié des anaérobies hors-panel retrouvés dans cette étude sont présents sur le panel ePlex® (représentés par *Bacteroides*, *Fusobacterium* spp., *Lactobacillus* spp.).

## Matériel et méthode

### 1. *Etude prospective des performances microbiologiques*

La première partie de l'étude a consisté en une évaluation des performances microbiologiques de la PCR multiplexe, comparée à la stratégie diagnostique standard utilisée au CHU Grenoble Alpes pour le diagnostic des bactériémies.

Entre novembre 2016 et novembre 2017, 200 cartouches RUO ePlex®-BCID GP, GN et FP ont été testées prospectivement sur des flacons d'hémocultures positifs, dont l'examen microscopique avait confirmé la présence de bactéries ou levures et avait permis de choisir le ou les panel(s) de PCR multiplexe (GP, GN, levures) à réaliser.

Les flacons testés correspondaient au premier flacon positif de l'épisode bactériémique ou fongémique pour un patient donné. En fonction de la disponibilité des cartouches RUO fournies par la société GenMark Diagnostics, l'ensemble des premiers flacons positifs un jour donné, ont été testés, dès leur positivité.

En pratique, après désinfection soigneuse du flacon d'hémoculture positif, quelques gouttes du flacon sont prélevées dans un tube à hémolyse stérile à l'aide d'un dispositif de prélèvement spécifique pour flacon d'hémoculture. Puis 50µL sont prélevés dans le tube à hémolyse à l'aide d'une micropipette et ajoutés dans le puit de la cartouche prévu à cet effet qui est ensuite fermé. La cartouche est alors lancée sur l'automate ePlex® et le résultat est obtenu en 1h30 sous la forme d'un rapport détaillant les résultats obtenus pour chaque cible du panel.

Cette manipulation prend 2min et ne nécessite aucune compétence spécifique.

En cas de détection de bactériémie ou fongémie polymicrobienne à l'observation microscopique, plusieurs cartouches de PCR multiplexes correspondant aux panels requis ont été réalisées à partir du flacon concerné.

Lorsque les examens microscopiques étaient différents entre les deux flacons d'une même paire d'hémoculture positive, les deux flacons ont été testés sur le panel requis par l'examen microscopique de chaque flacon.

Enfin, en cas de détection d'une cible Pan-Gram Negative (pan-GN), Pan-Gram Positive (pan-GP) ou Pan-*Candida* sur la première PCR réalisée, une nouvelle

cartouche de PCR correspondant au panel requis a été testée secondairement, sur le même flacon.

Un aliquot de chaque hémoculture positive a été conservé à -80° pour permettre la résolution d'éventuelles discordances a posteriori.

Il s'agissait d'une étude de performance, non interventionnelle : le résultat de la PCR n'a pas été rendu aux cliniciens.

## *2. Etude rétrospective de l'impact clinique potentiel du rendu rapide des résultats de la PCR multiplexe*

La deuxième partie de l'étude a consisté en une analyse rétrospective des épisodes de bactériémies et fongémies par un groupe d'experts regroupant des infectiologues issus de la Consultation Mobile d'Infectiologie et un microbiologiste du CHU Grenoble Alpes. L'objectif était d'évaluer rétrospectivement l'impact clinique potentiel du rendu rapide des résultats de la PCR multiplexe si celui-ci avait eu lieu en temps réel.

Les critères d'inclusion des patients étaient :

- la présence d'un sepsis documenté par un flacon d'hémoculture positif ayant été diagnostiqué par la stratégie standard réalisée au CHU Grenoble Alpes pour le diagnostic des bactériémies et fongémies, et pour lequel une PCR multiplexe a également été réalisée
- un âge  $\geq$  18 ans

Les critères d'exclusion étaient :

- l'absence de donnée clinique (patients sortis d'hospitalisation)
- une PCR multiplexe réalisé chez un patient dont l'épisode de bactériémie ou fongémie avait déjà été documenté au préalable (par exemple par un laboratoire de ville)
- le décès du patient avant la détection de la positivité du flacon d'hémoculture ou l'obtention du résultat de la PCR.
- une limitation de soins définie par l'absence d'introduction d'anti-infectieux dans les 24h après positivité du flacon d'hémoculture.

Entre novembre 2018 et mai 2019, les données microbiologiques et cliniques ont été collectées sur le dossier informatique des patients à l'aide d'un CRF électronique et présentées sous forme de cas cliniques détaillés.

Les données recueillies, si elles étaient présentes, étaient :

- Identification du patient : numéro attribué pour l'étude, initiales, mois et année de naissance, sexe, poids, taille, voyage hors métropole dans les 3 mois, date de l'hospitalisation initiale, service clinique au moment de la positivité de l'hémoculture.
- Antécédents médicaux et chirurgicaux : insuffisance cardiaque, HTA, coronaropathie, BPCO, tuberculose, asthme, hépatite B ou C, cirrhose prouvée, insuffisance rénale chronique, hémodialyse, dialyse péritonéale, transplantation d'organe, polyarthrite rhumatoïde, lupus, autres (texte libre).
- Antibiotiques/Antifongiques dans les 15 jours précédant l'hémoculture positive : nom des molécules, dates d'introduction et d'arrêt, posologie.
- Examen clinique le jour du prélèvement de l'hémoculture : valeurs hautes et basses de : température, PAS, PAD, fréquence cardiaque, diurèse des 24h, Glasgow Coma Score
- Paramètres biologiques le jour du prélèvement de l'hémoculture : valeurs hautes et basses de : CRP, PCT, leucocytémie, créatininémie, lactatémie
- Informations cliniques/biologiques ayant participé à la réalisation d'hémocultures : patient immunodéprimé, sepsis (selon l'ancienne définition), dysfonctions d'organe.
- Imagerie et anamnèse respiratoire : radiographie thoracique, symptômes respiratoires
- Ventilation mécanique et amines : ventilation mécanique non invasive, invasive, administration d'amines
- Signes extra-thoraciques : troubles hémodynamique, rénaux, hémorragiques, neurologiques, céphalée, épilepsie, focalisation, atteinte cutanée, atteinte digestive, diarrhée, vomissement, occlusion, atteinte hépatique, atteinte ostéoarticulaire, cathéter, autres (texte libre)
- Résultats microbiologiques de l'hémoculture : résultat de l'observation microscopique du flacon positif, bactéries / levures et résistances identifiées par PCR multiplexe, bactéries / levures et résistances identifiées en culture.
- Autres prélèvements positifs entre 48h avant et 5 jours après l'hémoculture positive : nature du prélèvement, date du prélèvement, bactérie / levure et résistances identifiées en culture

- Antibiothérapie le jour de l'hémoculture positive : nom des molécules, heure d'introduction
- Synthèse de séjour du service : date de fin d'hospitalisation, modification du lieu de mode de vie, décès, diagnostic retenu.

La liste exhaustive des paramètres cliniques et microbiologiques collectés est consultable en Annexe 1.

Chaque cas a été analysé conjointement par le groupe d'experts (au moins trois experts par séance), qui devait répondre aux questions suivantes (choix définis ou libres selon les items) :

- Diagnostic par les experts :
  - o Inclusion ou exclusion du patient
  - o Présence d'un sepsis (ancienne définition) documenté ou non documenté
  - o Diagnostic retenu avec porte d'entrée présumée
  - o Date et heure d'introduction d'une antibiothérapie optimisée
- Le résultat de l'identification bactérienne/fongique seule aurait-il conduit à une modification du traitement antibiotique/antifongique du patient ? (Optimisation / escalade / désescalade / arrêt / non)
- Le résultat des marqueurs de résistance aurait-il conduit à une modification du traitement antibiotique du patient ? (Optimisation / escalade / désescalade / arrêt / non)
- Le résultat de la PCR multiplex vous aurait-t-il conduit à une décision erronée ? (Oui / probablement / probablement pas / non)
- Le résultat de la PCR multiplex couplé au résultat de l'examen direct vous aurait-t-il conduit à une décision erronée ? (Oui / probablement / probablement pas / non)
- D'après vous, l'absence de PCR multiplex a été une perte de chance ? (Oui / probablement / probablement pas / non)
- Le résultat de la PCR aurait-t-il eu un impact sur votre prise en charge du patient (hors traitement antibiotique) ? (Oui / probablement / probablement pas / non)

Le questionnaire aux experts est consultable en Annexe 2.

L'optimisation du traitement anti-infectieux a été définie comme une modification du traitement anti-infectieux vers une autre classe de molécule pour obtenir une meilleure efficacité sur le micro-organisme en cause.

L'escalade du traitement anti-infectieux a été définie comme le démarrage d'une antibiothérapie si aucune n'avait été mise en place, ou un élargissement du spectre anti-infectieux.

La désescalade a été définie comme un rétrécissement du spectre anti-infectieux.

La notion de perte de chance se base sur une évaluation du groupe d'experts, basée sur la situation clinique et microbiologique du patient. A titre d'exemple, un retard > 24h à l'initiation d'un traitement anti-infectieux optimisé a été considéré comme une perte de chance probable dans les situations non compliquées de sepsis. L'utilisation de molécules toxiques non justifiées à la lumière des résultats de la PCR pendant plus de 24h a également été considérée comme une perte de chance probable.

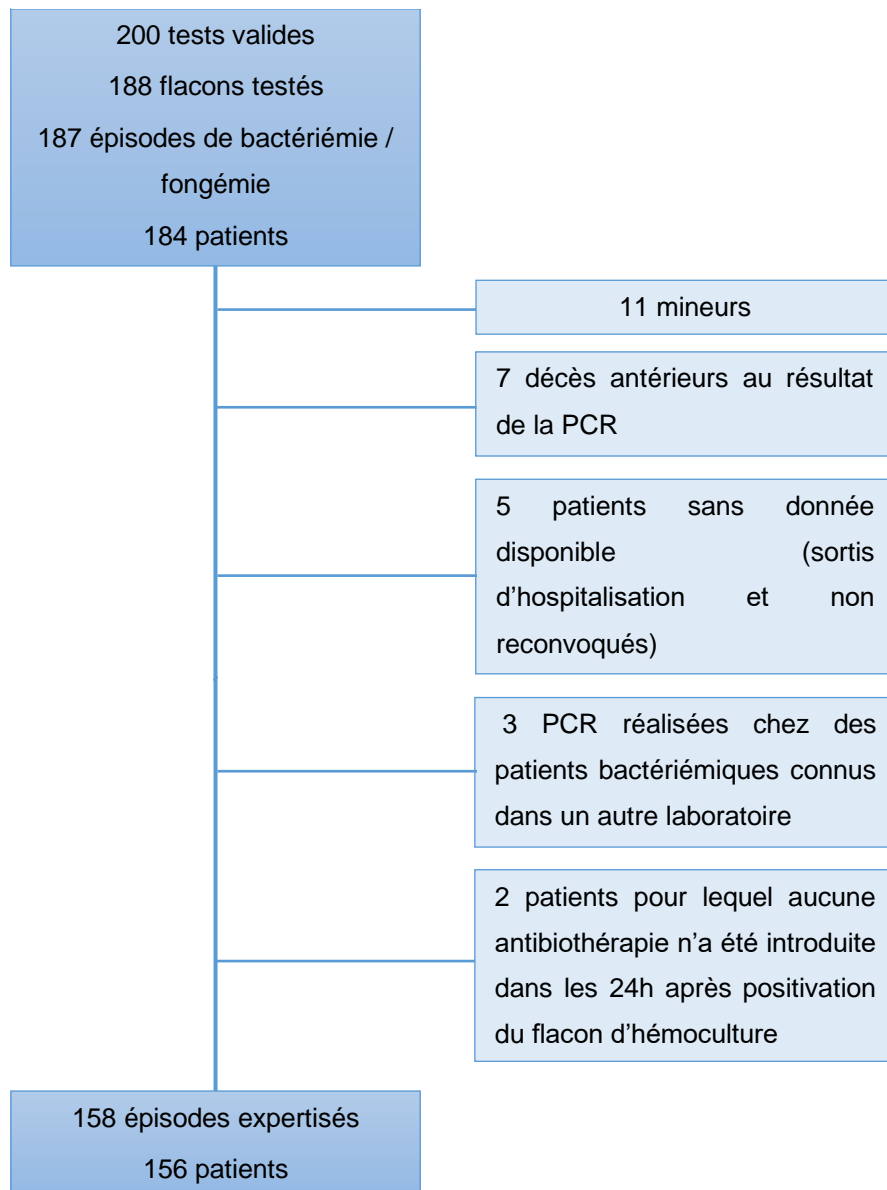
Une décision erronée a été définie comme une prise de décision, suite aux résultats de la PCR, non conforme à la décision qui a été prise suite à l'obtention des résultats d'identification et d'antibiogramme avec la stratégie diagnostique classique.

Les désaccords ont été discutés à l'intérieur du groupe, jusqu'à l'obtention d'un consensus.



# Résultats

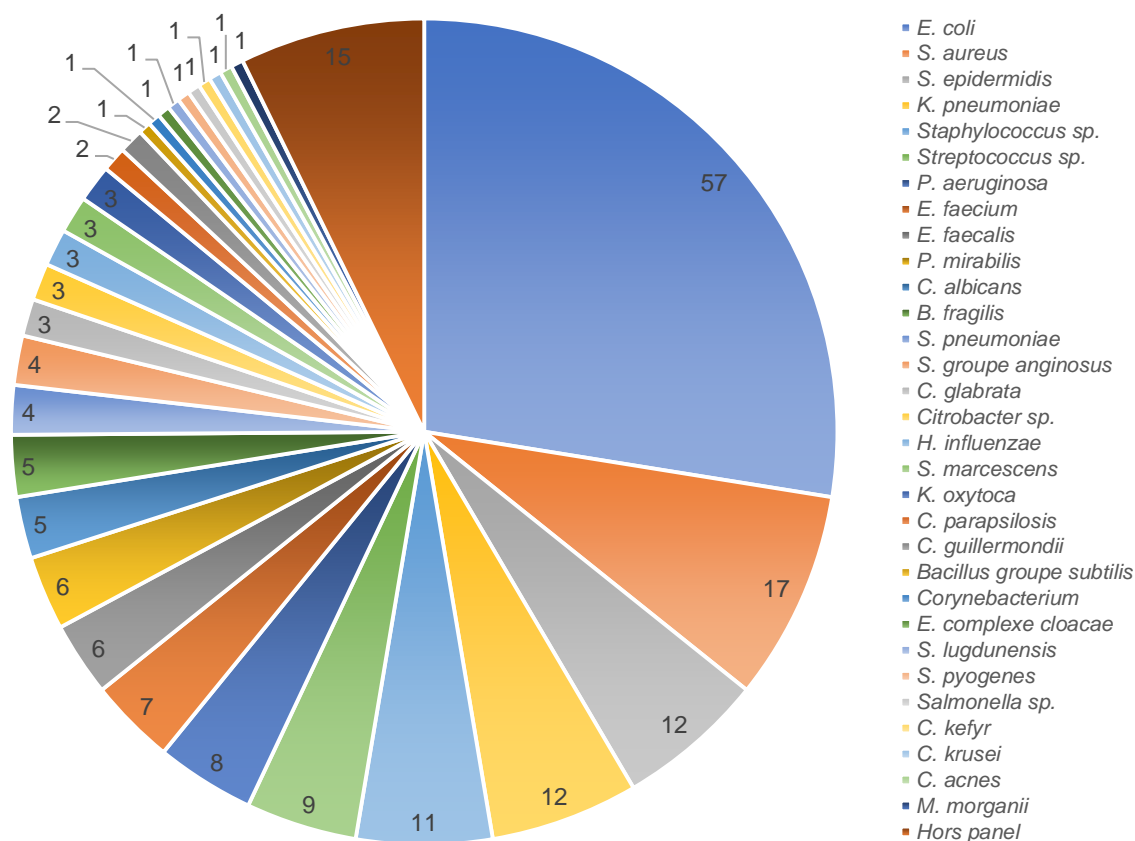
Figure 13 : Diagramme de flux



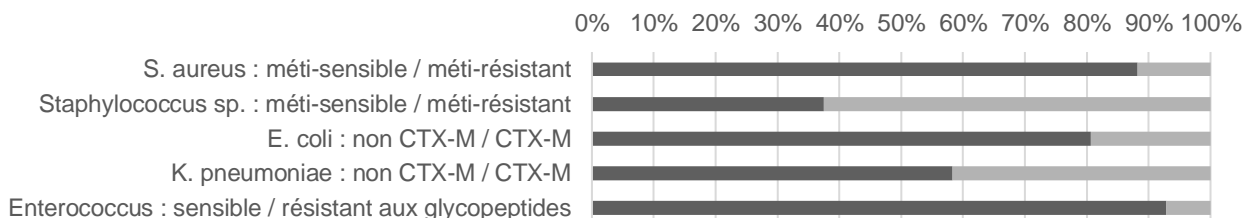
## 1. Performances microbiologiques

187 épisodes de bactériémie et fongémie ont été testés à l'aide de la PCR multiplexe. Les germes responsables, ainsi que les marqueurs de résistances identifiés sont détaillés dans la figure 14.

Figure 14 : Germes responsables de nos épisodes de bactériémie et fongémies



Dont : SARM 2/17 (11,7%) ; *Staphylococcus sp.* méti-résistant 15/24 (62,5%) ; *E. coli* CTX-M 11/57 (19,3%) ; *K. pneumoniae* CTX-M 5/12 (41,7%) ; ERG 1/13 (7,7%).



### Hémocultures mono-microbiennes à bactérie à Gram positif

Parmi les 66 épisodes de bactériémie mono-microbienne à bactérie à Gram positif, la PCR a correctement identifié 62 bactéries/66 au genre (94%) et 44 bactéries/66 à l'espèce (67%). Les quatre bactéries non identifiées (6%) ne faisaient pas partie du panel : *Gordonia sp.*, *Aerococcus viridans*, *Fingoldia magna*, *Bacillus sp.*

Il y a eu 4 faux-positifs, correspondant à la détection erronée de la cible pan-*Candida* dans deux échantillons, et de la cible pan-GN dans deux échantillons, en plus de la bactérie réellement présente dans l'échantillon. Ces cibles n'avaient pas été suspectées à l'observation microscopique et n'ont pas été confirmées par la cartouche PCR correspondante et/ou par la culture.

En ce qui concerne les mécanismes de résistance recherchés par le panel GP, la PCR a correctement détecté la présence du gène *mecA* dans les 16 échantillons (100%)

contenant des souches de staphylocoques présentant ce mécanisme de résistance (2 souches de *S. aureus*, 9 souches de *S. epidermidis*, 5 souches de *Staphylococcus* sp.).

Tableau 12 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram positif

Cibles	Identification BCID / MALDITOF	Résistances BCID / AST	Discordances	Description des discordances
<i>Staphylococcus aureus</i>	16/16	2/2 <i>mecA</i>	1 FP	Pan-Candida détecté (1)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12/12	9/9 <i>mecA</i>	2 FP	Pan-Candida détecté (1) Pan-GN détecté (1)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1/1	0	0	
<i>Staphylococcus</i> sp.	10/10 <sup>1</sup>	5/5 <i>mecA</i> <sup>2</sup>	0	
<i>Enterococcus faecalis</i>	4/4	0	0	
<i>Enterococcus faecium</i>	4/4	0	0	
<i>Streptococcus pyogenes</i> (GAS)	1/1		0	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4/4		1 FP	Pan-GN détecté (1)
<i>Streptococcus</i> groupe <i>anginosus</i>	1/1		0	
<i>Streptococcus</i> sp.	7/7 <sup>3</sup>		0	
<i>Corynebacterium</i>	1/1 <sup>4</sup>		0	
<i>Bacillus</i> groupe <i>subtilis</i>	1/1		0	
Hors panel	0/4 <sup>5</sup>			
<b>Total</b>	<b>62/66</b> <b>(4 hors panel)</b>	<b>16/16</b>	<b>4</b>	<b>4 FP</b>

<sup>1</sup> *S. capitis* (2), *S. hominis* (8).

<sup>2</sup> *S. hominis* (5)

<sup>3</sup> *S. sanguinis* (1), *S. mitis/oralis* (2), *S. gallolyticus* (2), *S. parasanguinis* (2).

<sup>4</sup> *C. striatum* (1).

<sup>5</sup> *Gordonia* sp., *Aerococcus viridans*, *Fingoldia magna*, *Bacillus* sp.

## Hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram négatif

Parmi les 91 épisodes de bactériémie mono-microbienne à bactérie à Gram négatif, la PCR a correctement identifié 85/91 bactéries au genre (93%) et 81/91 bactéries à l'espèce (89%).

Cinq bactéries non identifiées ne faisaient pas partie du panel (5,5%) : *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter pittii*, *Paracoccus sanguinis*, *Pantoea agglomerans*, *Aeromonas hydrophila*.

Une bactériémie à *P. aeruginosa* n'a pas été identifiée par la PCR, alors que la souche a poussé en culture. L'échantillon a été re-testé sur une nouvelle cartouche a posteriori, qui a bien retrouvé cette fois la présence de *P. aeruginosa*. Le signal obtenu avec la PCR était probablement à la limite du seuil de détection la première fois.

Il y a eu 6 faux-positifs partiels, correspondant à la détection, en plus de l'identification correcte du germe effectivement présent dans le flacon, de l'identification dans 3 échantillons de la cible *S. maltophilia*, dont 1 résultat couplé à la détection simultanée et également erronée de la cible *N. meningitidis* ; de la cible *E. complexe cloacae* dans 1 échantillon ; de la cible pan-GP dans 1 échantillon. Aucune de ces cibles n'a été confirmée, ni par la culture, ni par la cartouche GP dans le cas de la détection de la cible pan-GP.

En ce qui concerne les mécanismes de résistance recherchés par le panel GN, la PCR a correctement détecté la présence d'une BLSE dans les 16 échantillons contenant des souches présentant une BLSE de type CTX-M (100%). Aucun faux-négatif lié à la présence de BLSE de type non-CTX-M n'a été observée.

Tableau 13 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram négatif

Cibles	Identification BCID / MALDITOF	Résistances BCID / AST	Discordances	Description des discordances
<i>Escherichia coli</i>	53/53	10/10 CTX-M	3 FP	<i>S. maltophilia</i> (1) et <i>N. meningitidis</i> (1) détectés <i>E. complexe cloacae</i> détecté (1)
<i>Proteus mirabilis</i>	2/2	0	0	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10/10	5/5 CTX-M	0	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2/2	0	1 FP	Pan-GP détecté (1)
<i>Citrobacter sp.</i>	3/3 <sup>1</sup>	0	1 FP	<i>S. maltophilia</i> détecté (1)
<i>Enterobacter complexe cloacae</i>	1/1	0	0	
<i>Serratia marcescens</i>	3/3	1/1 CTX-M	0	
<i>Salmonella sp.</i>	1/1 <sup>2</sup>	0	0	
<i>Haemophilus influenzae</i>	3/3	0	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4/5	0	1 FN  1 FP	<i>P. aeruginosa</i> non détecté (1) <i>S. maltophilia</i> détecté (1)
<i>Bacteroides fragilis</i>	3/3	0	0	
Hors panel	0/5 <sup>3</sup>		0	
<b>Total</b>	<b>85/91</b> <b>(5 hors panel)</b>	<b>16/16</b>	<b>7</b>	<b>6 FP et 1 FN</b>

<sup>1</sup> *C. koseri* (3).

<sup>2</sup> *Salmonella enterica* Dublin.

<sup>3</sup> *Acinetobacter johnsonii* (1), *Acitenobacter pitii* (1), *Paracoccus sanguinis* (1), *Pantoea agglomerans* (1), *Aeromonas hydrophila* (1).

## Hémocultures mono-microbiennes à levures

Parmi les 14 épisodes de fongémie mono-microbiennes, la PCR a correctement identifié 12 levures du genre *Candida* à l'espèce (86%). Les 2 levures non identifiées ne faisaient pas partie du panel (14%) : *Candida inconspicua* et *Candida orthopsilosis*.

Tableau 14 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures mono-microbiennes à levure

Cibles	Identification BCID / MALDITOF	Discordances
<i>Candida albicans</i>	5/5	0
<i>Candida glabrata</i>	2/2	0
<i>Candida parapsilosis</i>	2/2	0
<i>Candida kefyr</i>	1/1	0
<i>Candida guilliermondii</i>	2/2	0
Hors panel	0/2 <sup>1</sup>	0
Total	12/14 (2 hors panel)	0

---

<sup>1</sup> *Candida orthopsilosis* (1), *Candida inconspicua* (1)

## Hémocultures poly-microbiennes

Il y a eu 16 épisodes de bactériémie et fongémie polymicrobiennes.

Des bactéries à la fois à Gram positif et à Gram négatif ont été impliquées dans 6 épisodes. Deux cartouches (panel GP et GN) ont alors été utilisées. Dans un cas, l'épisode a impliqué des bactéries à Gram positifs et à Gram négatifs, identifiés comme différents lors de l'observation microscopique des deux flacons de la paire d'hémoculture. Trois cartouches ont alors été utilisées (panel GP et GN sur le flacon anaérobie, et panel GN sur le flacon aérobie).

Parmi les 36 agents infectieux mis en évidence, la PCR en a correctement identifié 31 (86%).

4 bactéries non identifiées ne faisaient pas partie du panel (11% des germes) : *Collinsella aerofaciens*, *Dialister pneumosintes*, *Actinomyces neuii*, *Veillonella parvula*. Un *P. aeruginosa* n'a pas été identifié. Il a été testé a posteriori sur une nouvelle cartouche, avec le même résultat. L'analyse de l'intensité du signal par le fabricant a retrouvé un signal à la limite du seuil de détection.

Les 2 autres faux-négatifs étaient des absences de détection de la cible Pan-GP, qui n'ont eu aucune conséquence, étant donné qu'il s'agissait d'hémocultures polymicrobiennes à Gram positif et à Gram négatif pour lesquelles deux cartouches devaient de toute façon être utilisées.

Dans un épisode, la PCR a détecté les cibles *Streptococcus* groupe *anginosus* et *Streptococcus* sp., masquant la présence d'une deuxième bactérie du genre *Streptococcus*, en l'occurrence une souche de *S. mitis/oralis*.

La PCR a détecté 2 cibles pan-GN, sur deux flacons initialement étiquetés mono-microbiens à bactérie à Gram positif. Les cartouches GN testées sur ces flacons ont détecté la cible *B. fragilis*. Dans un de ces deux cas, la culture de l'autre flacon de la même paire a également retrouvé un *B. fragilis*. Ces deux cas ont été considérés comme vrai-positifs.

De même, la PCR a détecté sur un flacon aérobie 2 cibles *C. glabrata* et *C. krusei*, dont seul le *C. krusei* a poussé en culture. La culture du flacon anaérobie de la même paire a mis en évidence un *C. glabrata*. Nous avons également considéré ce cas comme un vrai-positif.

La PCR a correctement détecté les 3 marqueurs de résistance (100%), dont un ERG porteur du gène *vanA*, un *E. coli* producteur de BLSE de type CTX-M et un *Staphylococcus* sp. porteur du gène *mecA*.

Tableau 15 : Corrélation des résultats obtenus par PCR et culture pour les hémocultures polymicrobiennes

Cibles	Identification BCID / MALDITOF	Résistances BCID / AST	Discordances	Description des discordances
<b><i>Enterococcus faecalis</i></b> <b>+ <i>Staphylococcus aureus</i></b>	2/2	0	0	
<b><i>Escherichia coli</i></b> <b>+ <i>Proteus mirabilis</i></b>	2/2	0	0	
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> <b>+ <i>Enterococcus faecium</i></b> <b>+ <i>Staphylococcus sp.</i><sup>1</sup></b>	Panel GP 2/2 Panel GN 1/1  Pan-GP et Pan-GN détectés	1/1 <i>mecA</i>	0	
<b><i>Bacteroides fragilis</i></b> <b>+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> <b>+ 2 germes à Gram Positifs hors panel<sup>2</sup></b>	Flacon AE : GP : 0/2 GN : 1/1  Flacon ANA : GN : 1/1 Hors panel : 0/2	0	2 sur le flacon AE : 1 FN + 1 VP	FN : <i>P. aeruginosa</i> non détecté VP : <i>B. fragilis</i> non retrouvé en culture du flacon aérobie <sup>3</sup>
<b><i>Proteus mirabilis</i></b> <b>+ <i>Streptococcus</i> groupe <i>anginosus</i><sup>4</sup></b>	GP : 1/1 GN : 1/1 Pan-GN détecté	0	1 FN	Pan-GP non détecté
<b><i>Enterococcus faecium</i></b> <b>+ <i>Streptococcus sp.</i><sup>5</sup></b>	2/2	1/1 <i>vanA</i>	0	
<b><i>Cutibacterium acnes</i></b> <b>+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	GP : 1/1 GN : 1/1 Pan-GN détecté	0		
<b><i>Escherichia coli</i></b>	4/4	0	0	

<sup>1</sup> *S. haemolyticus*<sup>2</sup> *Collinsella aerofaciens* (1), *Dialister pneumosintes* (1)<sup>3</sup> Probable vrai positif de *B. fragilis*, car détecté en PCR sur la paire, et retrouvé en culture sur le flacon anaérobie.<sup>4</sup> *S. milleri*<sup>5</sup> *S. mitis/oralis*



<b>+ <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2)</b>				
<b>2 germes hors panel GP<sup>1</sup></b>	0/2	0	0	
<b><i>Streptococcus</i> groupe <i>anginosus</i> + <i>Streptococcus sp.</i><sup>3</sup></b>	2/2	0	0	<i>S. mitis/oralis</i> non suspecté sur les résultats de la PCR
<b><i>Enterococcus faecium</i> + <i>Escherichia coli</i></b>	GP : 1/1 GN : 1/1 Pan-GN détectés	1/1 CTX-M	1 FN	Pan-GP non détecté
<b><i>Klebsiella oxytoca</i> + <i>Proteus mirabilis</i> + <i>Morganella morganii</i></b>	3/3	0	0	
<b><i>Streptococcus</i> groupe <i>anginosus</i> + <i>Bacteroides fragilis</i></b>	GP : 1/1 GN : 1/0 Pan-GP et pan-GN détectés	0	1 VP	<i>B. fragilis</i> non retrouvé en culture mais détecté en PCR <sup>2</sup>
<b><i>Proteus mirabilis</i> + <i>Enterococcus faecalis</i></b>	GP : 1/1 GN : 1/1 Pan-GP et pan-GN détectés	0	0	
<b><i>Candida krusei</i> + <i>Candida glabrata</i></b>	2/1		1 VP	<i>C. glabrata</i> non retrouvé en culture sur flacon aérobie <sup>3</sup>
<b>Total des identifications correctes</b>	<b>29 / 34 + 3 VP (4 hors panel)</b>	<b>3/3</b>	<b>6</b>	<b>3 FN et 3 VP</b>

<sup>1</sup> *Actinomyces neuui* + *Veillonella parvula*

<sup>2</sup> Probable vrai positif de *B. fragilis*, car cibles pan-GN et *B. fragilis* détectées.

<sup>3</sup> Probable vrai positif de *C. glabrata*, car retrouvé en culture dans le flacon anaérobie.

Tous panels confondus, une identification fiable du genre et de l'espèce a été obtenue dans 173/187 (92,5%) et 148/187 (79%) des épisodes de bactériémies ou fongémies :

- 62/66 (94%) et 44/66 (67%) des épisodes mono-microbiens à bactérie à Gram positif
- 85/91 (93%) et 81/91 (89%) des épisodes mono-microbiens à bactérie à Gram négatif
- 12/14 (86%) des épisodes mono-microbiens à levures
- 14/16 (87,5%) et 11/16 (69%) des épisodes polymicrobiens

Tous flacons confondus, le taux de concordance de l'ensemble des résultats obtenus avec la PCR multiplexe (identification au genre et évaluation de la sensibilité aux antibiotiques de la PCR) par rapport à la méthode de culture est de 85,6% (concordance totale des résultats pour 161/188 flacons d'hémoculture testés).

En excluant les 12 flacons d'hémocultures n'impliquant que des germes hors panel, ainsi que les 3 vrai-positifs de la PCR, on retrouve un taux de concordance de 161/173 (93%).

Seuls 2 tests/200 (1%) ont conclu à des résultats d'identification faussement négatifs et concernaient deux bactériémies à *P. aeruginosa*.

Seuls 4 tests/200 (2%) ont conclu à des résultats d'identification faussement positifs (détection erronée d'une cible supplémentaire).

6 tests/200 (3%) ont retrouvé des cibles universelles détectées ou non détectées de manière erronée.

## 2. Résultats cliniques rétrospectifs

### Population

Après exclusion des dossiers ne correspondant pas aux critères définis précédemment, 158 épisodes de bactériémie, pour 156 patients (un patient avec 3 épisodes de bactériémie/fongémie), ont été expertisés. (Figure 13).

Les caractéristiques des patients expertisés sont données dans le tableau 16.

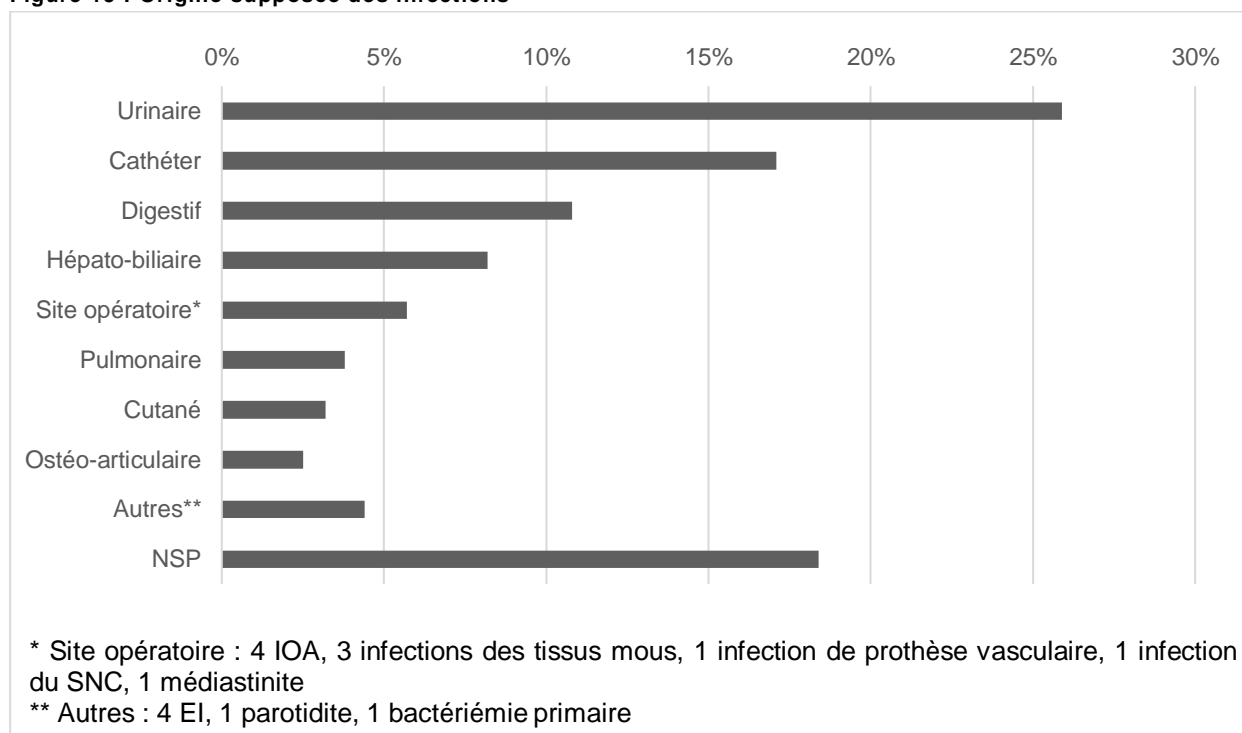
Tableau 16 : Caractéristiques de la population étudiée

	Bactériémies	Fongémies
<b>Nombre d'épisodes</b>	148	10
<b>Sexe (M/F)</b>	80/68	6/4
<b>Age moyen</b>	67 ans	62 ans
<b>Service</b>		
- Réanimation	18 – 12%	3 – 30%
- Hématologie	18 – 12%	2 – 20%
- Médecine	85 – 57%	5 – 50%
- Chirurgie	26 – 18%	0

### Diagnostic infectiologique

Il y a eu 17 diagnostics de contaminations (10,8%). L'origine supposée des infections est détaillée dans la figure 15.

Figure 15 : Origine supposée des infections



Concernant les identifications au genre seulement des bactéries à Gram-positif parmi les dossiers expertisés (cibles *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp.) :

5/8 identification de *Staphylococcus* sp. (non *aureus*, non *lugdunensis*, non *epidermidis*) ont été classifiées comme contaminations.

En revanche, parmi les 8 identification de *Streptococcus* sp. (non *pneumoniae*, non groupe *anginosus*, non *agalactiae*, non *pyogenes*), 4 ont été classifiés comme « translocation digestive » et 3 comme « endocardite infectieuse ».

L'identification de *Corynebacterium striatum* était une infection de cathéter.

### Bénéfices cliniques de la PCR

Les experts ont estimé que l'absence de PCR a été une perte de chance, certaine ou probable, dans 43/158 épisodes (27%).

Les résultats de l'identification seule auraient conduit les experts à faire modifier le traitement anti-infectieux dans 59/158 épisodes (37%).

Les résultats des marqueurs de résistance les auraient conduits à faire modifier le traitement anti-infectieux dans 29/158 épisodes (18%).

En prenant en compte ces deux informations, les traitements auraient été modifiés dans 71/158 des épisodes (45%).

Tableau 17: Modifications de l'antibiothérapie

Modification (nombre de cas,%) suite aux résultats...	NA	Non	Arrêt	Désescalade	Optimisation	Escalade
<b>De l'identification</b>		99	2	22	28	7
		62,7%	1,3%	13,9%	17,7%	4,4%
<b>Des marqueurs de résistance</b>	47	82		12	4	13
	29,7%	51,9%		7,6%	2,5%	8,2%

La PCR aurait fait modifier la prise en charge hors traitement anti-infectieux, de façon certaine ou probable, dans 22 cas sur 158 (14%). Elle aurait permis :

- d'accélérer la mise en place de mesures d'hygiène dans 11 cas sur 158 (7%)
- d'accélérer le retrait de cathéter dans 2 cas sur 158 (1,2%)
- d'accélérer une reprise chirurgicale dans 1 cas sur 158 (0,6%).

Une reprise de l'enquête étiologique aurait été réalisée à la réception des résultats de la PCR dans 6 cas sur 158 (3,8%).

## Risques de la PCR

Notre évaluation des performances microbiologiques a relevé 12 épisodes incorrectement diagnostiqués par la PCR (détection erronée de 6 cibles bactériennes spécifiques et de 6 cibles universelles détectées ou à l'inverse non détectées de façon erronée). Parmi ces épisodes, 10 ont été expertisés (exclusion du cas d'un patient mineur et d'un cas pour cause d'absence de donnée).

Les résultats de la PCR auraient conduit les experts, de façon certaine ou probable, à prendre une décision erronée dans 7/158 épisodes (4,4%).

Dans 6 cas, la décision erronée était due à un résultat erroné de la PCR, et dans 1 cas, elle était due à une mauvaise interprétation des résultats rendus.

Les décisions erronées correspondaient toutes à une escalade, une optimisation ou un maintien à l'identique du traitement anti-infectieux. Le risque théorique de ces modifications aurait donc été lié aux potentiels effets indésirables d'un traitement inutile, et non à un défaut de couverture anti-infectieuse.

**Tableau 18 : Décisions erronées des experts suite aux résultats erronés de la PCR**

	Diagnostic microbiologique	Diagnostic clinique	Décision erronée due à la PCR	Décision erronée en couplant les résultats de la PCR et du Gram
26	Détection pan- <i>Candida</i> erronée + SARM	Médiastinite post opératoire	Optimisation erronée certaine (ajout d'échinocandine)	Probable
46	Détection <i>S. maltophilia</i> erronée + <i>Citrobacter</i> sp	Infection urinaire masculine	Escalade erronée certaine	Certaine
55 / 56	Non détection <i>P. aeruginosa</i> erronée + <i>B. fragilis</i> + anaérobies Gram positives hors panel	Translocation sur sigmoïdite	Maintien de l'antibiothérapie erronée (absence d'ajout probable de ciprofloxacine)	Probable
62	Détection <i>S. maltophilia</i> et <i>N. meningitidis</i> erronée + <i>E. coli</i>	Pyélonéphrite simple non à risque de complication	Escalade erronée certaine	Probable

110	Détection <i>Streptococcus</i> sp + <i>Streptococcus anginosus</i> group	Sepsis, RVA et tube aortique 4J avant	Optimisation erronée, probable	Probable
136	Détection de <i>S. maltophilia</i> erronée + <i>P. aeruginosa</i>	Agranulocytose fébrile en réanimation, probable translocation digestive	Optimisation erronée, certaine	Certaine
188	Non détection de <i>P. aeruginosa</i> erronée ; Aucune cible détectée	Infection urinaire liée au soin (néphrostomie récente)	Maintien de l'antibiothérapie erronée (absence d'ajout probable de ciprofloxacine)	Probable

A noter, pour 4 épisodes sur les 10 expertisés, les experts n'ont pas tenu compte des résultats erronés de la PCR, au vu du tableau clinique, du réexamen microscopique du prélèvement et des résultats du contrôle sur le panel correspondant.

#### Gestion des résultats « Aucune cible détectée »

Sur les 12 épisodes pour lesquels aucune cible n'a été détectée par la PCR, 10 ont pu être expertisés (exclusion du cas d'un mineur et décès d'un patient avant la positivation de l'hémoculture).

Un seul épisode était en réalité un faux négatif (*P. aeruginosa* non détecté, dont les conséquences cliniques potentielles ont déjà été détaillées dans le tableau 18).

Les 9 autres n'auraient induit aucune décision erronée de la part des experts.

Dans la plupart des cas, le résultat hors panel n'aurait rien changé à la prise en charge.

#### Gestion des détections de cible universelle

La détection de cibles universelles isolées liées à un examen microscopique défaillant a été retrouvée dans deux épisodes.

Dans un cas de bactériémie à *Acinetobacter johnsonii* chez un patient en réanimation à J10 d'une péritonite, la détection d'une cible pan-GN sur le panel GP aurait permis de rattraper l'examen microscopique qui avait rendu streptocoque, et aurait fait ajouter un antibiotique anti-BGN à large spectre.

Dans le cas de la bactériémie polymicrobienne à *P. aeruginosa*, *B. fragilis* et bactéries à Gram positif anaérobies, liées à une translocation digestive, la détection du marqueur pan-GN sur le panel GP aurait permis de rattraper l'examen microscopique

qui avait conclu uniquement à la présence d'un CGP évoquant un streptocoque. Cela n'aurait pas fait changer la prise en charge par ailleurs.

## DISCUSSION

Afin d'améliorer le pronostic des bactériémies et des fongémies en termes de morbi-mortalité, il est aujourd'hui nécessaire de disposer de nouveaux tests rapides permettant d'accélérer leur diagnostic, car les stratégies conventionnelles nécessitent 24 à 48h en moyenne pour identifier le(s) pathogène(s) en cause, et déterminer sa (leur) sensibilité aux anti-infectieux.

L'étude prospective multicentrique SPA-BACT, ayant analysé l'intégralité des hémocultures positives de 121 établissements de santé français durant un mois, entre novembre 2014 et février 2015, a retrouvé une proportion d'infection simple (sans dysfonction d'organe), de sepsis et de choc septique de 68%, 22% et 10% respectivement. Néanmoins, malgré un traitement empirique débuté dès les premiers signes de sepsis, le traitement empirique introduit était inapproprié dans quasiment 40% des cas de cette étude (le traitement empirique étant considéré approprié si tous les germes étaient sensibles, s'il était administré à la posologie appropriée, selon la voie d'administration appropriée et s'il permettait une diffusion tissulaire suffisante au vu de la porte d'entrée suspectée). (11) Ces chiffres ont tendance à augmenter au fil des ans du fait de l'augmentation de la résistance des entérobactéries aux C3G et aux carbapénèmes. (96)

De nombreuses stratégies innovantes de documentation rapide sont proposées, afin de pouvoir orienter l'antibiothérapie empirique en quelques heures. On peut citer la spectrométrie de masse MALDI-TOF réalisée sur culot d'hémoculture positive ou sur colonie après subculture courte (4-10h), et la PNA FISH, permettant une adaptation du traitement anti-infectieux empirique sur des données d'identification bactérienne ou fongique. Cette dernière technique est par ailleurs limitée actuellement à la détection de seulement 5 cibles au maximum selon le kit utilisé.

En revanche, la vidéomicroscopie couplée à la PNA FISH, ainsi que les techniques de PCR multiplexe permettent d'apporter en sus de premières informations sur la résistance à certaines classes d'antibiotiques à fort impact thérapeutique. Cette information peut également être apportée de manière isolée par la réalisation de tests immunochromatographiques pour la détection des carbapénémases (ex. : K-set, Coris), de tests d'hydrolyse pour la détection de la résistance aux C3G (ex. : bêta-lacta test, Biorad), ou de tests PCR spécifiques (ex. : Xpert MRSA, Cepheid).



Le choix de ces stratégies innovantes doit être guidé par l'épidémiologie locale des résistances, les schémas de prescription des antibiotiques et antifongiques de la structure hospitalière, la présence et la disponibilité d'une équipe d'infectiologues dédiés, les caractéristiques des patients hospitalisés et le personnel disponible pour la réalisation de ces nouveaux tests. (101)

Dans ce contexte actuel de mise sur le marché de nombreux nouveaux outils de diagnostic rapides pour les bactériémies et fongémies, nous avons évalué le test ePlex®-BCID (GenMark Diagnostics), qui a récemment été approuvé par la FDA, a obtenu son marquage CE-IVD, et a été commercialisé dans sa version actuelle. Cette PCR multiplexe est actuellement utilisée en routine dans quelques Centres Hospitaliers français. Elle permet la détection de 41 cibles bactériennes, 15 cibles fongiques et 10 marqueurs de résistance directement à partir du flacon d'hémoculture.

Tous panels confondus, une identification fiable du genre a été obtenue dans 173/187 (92,5%) des épisodes, ce qui est comparable aux performances de la PCR FilmArray® (91,6%) (91). Une identification fiable à l'espèce des micro-organismes présents sur les panels a été obtenue dans 148/187 (79%) des épisodes avec la PCR ePlex®, soit 20% supplémentaires d'identification à l'espèce par rapport à la PCR FilmArray® (59%). (91) Comparé aux panels FilmArray®, les panels ePlex® permettent de distinguer les espèces *E. faecalis* et *faecium*, dont la prise en charge thérapeutique est très différente en Europe au vu de la différence entre leurs profils de résistance. L'identification de plusieurs entérobactéries du groupe 3 et de *S. maltophilia*, qui sont des BGN possédant des profils de résistance particuliers, est également un avantage en faveur de l'ePlex®. L'identification de contaminants potentiels est accrue par la présence des cibles *Corynebacterium* sp, *Bacillus* groupe *subtilis* et *Micrococcus* sp. L'identification rapide des germes anaérobies, enjeu pronostic souligné par Ny et al (100), est également accrue par la présence des cibles *Fusarium*, *Lactobacillus* et *Bacteroides*.

Concernant les marqueurs de résistance, l'ePlex® est largement supérieur, avec la détection des BLSE de type CTX-M, représentant plus de 90% des BLSE en France (95), et les gènes de carbapénémases OXA-23, OXA-48, IMP, VIM et NDM, permettant la couverture de plus de 95% des carbapénémases isolées à ce jour. (96) Concernant spécifiquement les panels fongiques, un avantage de la PCR ePlex® versus FilmArray®, est l'identification de basidiomycètes, qui, bien que rare, est

cliniquement significative, car beaucoup d'entre eux sont naturellement résistants aux échinocandines, antifongique introduit en première intention dans les fongémies. La détection de *Candida auris*, champignon multirésistant émergent, est également d'intérêt.

Les tests invalides, dont le taux était supérieur pour les cartouches RUO que pour les cartouches CE-IVD actuelles (environ 5%, données personnelles), n'ont pas été reportés dans cette étude, ni dans celle de Huang et al (82), car il s'agissait de deux études pilote sur des cartouches en cours de développement. Ce taux sera pris en compte dans l'étude prospective en cours sur la version commercialisée du test.

Tous flacons confondus, une identification correcte au genre et une évaluation correcte de la sensibilité aux antibiotiques a été obtenue avec la PCR multiplexe dans 161 /188 flacons par rapport à la méthode conventionnelle (85,6% de concordance).

En excluant les 12 flacons d'hémocultures n'impliquant que des germes hors-panel, ainsi que les 3 vrai-positifs de la PCR, on retrouve un taux de concordance de 93% (161/173) de la PCR multiplexe par rapport à la culture, témoignant de performances très intéressantes, considérant la réduction des délais de rendu des résultats.

Nos résultats sont en accord avec la précédente évaluation des performances microbiologiques du test ePlex®-BCID, qui retrouvait un taux de concordance de 96% et de 94% pour l'identification des cibles présentes sur les panels GP et GN respectivement. (82)

La stratification des résultats en fonction de l'examen microscopique et de la nature monomicrobienne ou polymicrobienne des échantillons, montre que les meilleures performances sont obtenues pour les épisodes mono-microbiens à bactérie à Gram négatif, avec une identification au genre de 85/91 (93%) et à l'espèce de 81/91 (89%) ; ainsi que pour les fongémies, avec une identification à l'espèce de 12/14 (86%). Les épisodes mono-microbiens à bactérie à Gram positif sont bien identifiés au genre 62/66 (94%), mais moins à l'espèce 44/66 (67%), dû principalement à la détection uniquement au genre des contaminants fréquents (*Staphylococcus* sp. et *Corynebacterium* sp.), ainsi que des streptocoques oraux.

Les performances d'identification au genre des bactéries à Gram positif par la PCR ePlex® sont supérieures à celles du MALDI-TOF sur culot d'hémoculture positive, qui identifie correctement les bactéries à Gram positif au genre et à l'espèce, dans seulement 80 et 60% des cas respectivement. (70) Les performances sont en

revanche comparables pour les bactéries à Gram-négatif. L'approche MALDI-TOF permet l'identification d'un nombre d'espèces différentes bien supérieur à la PCR (plus de 2000 espèces dans les bases de données MALDI-TOF).

Les performances de la PCR ePlex® sont identiques à celles du MALDI-TOF après subculture de courte durée pour l'identification des bactéries à Gram négatif (plus de 90% d'identification fiable en 4-5h de subculture courte) (71) ; mais en revanche inférieures en ce qui concerne l'identification à l'espèce des bactéries à Gram positif, au prix de délais de rendu de résultats plus longs (73 à 92% d'identification fiable en 5 à 6h et plus de 90% en 8h). (71) Un des avantages non négligeables de la PCR multiplexe sur le MALDI-TOF, est l'identification fiable des bactéries et levures présentes dans les échantillons polymicrobiens, avec une identification au genre et à l'espèce de tous les micro-organismes présents dans 14/16 (87,5%) et 11/16 (69%) des épisodes polymicrobiens respectivement. En comparaison, les techniques MALDI-TOF sur échantillons polymicrobiens permettent, au mieux, de détecter le germe majoritaire dans de rares cas, l'identification échouant complètement la plupart du temps.

Par ailleurs, la PCR a permis de détecter 3 vrai-positifs (2 *B. fragilis* et 1 *C. glabrata*) n'ayant pas été retrouvés en culture. Deux des trois VP ont été confirmés par la culture de la bactérie sur le deuxième flacon de la paire d'hémoculture. Le troisième a été considéré comme VP, par la détection d'une cible pan-GN sur la première cartouche GP testée et d'une cible *B. fragilis* sur la cartouche GN testée secondairement sur le même flacon.

A l'inverse, seuls 2/200 tests (1%) ont conclu à des résultats d'identification faussement négatifs et concernaient deux bactériémies à *P. aeruginosa*. Cela témoigne de la très forte sensibilité de cette PCR pour les cibles présentes dans les panels, à l'exception de la cible *P. aeruginosa*, ce qui avait déjà été observé précédemment. (82) Cette absence de détection pourrait être expliquée par une vitesse de croissance plus lente de *P. aeruginosa*, entraînant une charge bactérienne inférieure au seuil de détection. La PNA FISH a également rapporté des difficultés dans l'identification de *P. aeruginosa*. (85)

Seuls 4/200 tests (2%) ont conclu à des résultats d'identification faussement positifs (détection erronée d'une cible spécifique supplémentaire), dont trois concernaient la détection de la cible *S. maltophilia*.

Enfin, 6/200 tests (3%) ont retrouvé des cibles universelles détectées ou non détectées de manière erronée. Ces erreurs de détection ont été investiguées par le fabricant, qui

a systématiquement retrouvé des signaux autour de la limite du seuil de détection, et qui a procédé à une modification du seuil de détection de ces cibles dans la version commercialisée du test.

En ce qui concerne l'efficacité du test à détecter les marqueurs de résistance recherchés, une performance excellente a été obtenue avec une détection de 100% des marqueurs de résistance (17 CTX-M, 17 mecA, 1 vanA), ce qui rend ce test extrêmement intéressant pour la détection rapide des BMR dans les bactériémies. Cependant, les marqueurs de résistance sont en perpétuelle évolution (cibles mouvantes) et ceux de notre panel ne rendent compte que de certains mécanismes de résistance pour une même molécule. A titre d'exemple, une résistance aux C3G peut être due à une BLSE (de type CTX-M ou non), mais également à une céphalosporinase dérégulée. Un résultat négatif de la PCR n'est donc pas synonyme de sensibilité du germe. Il est nécessaire de rester clinique et critique vis-à-vis de ces résultats, notamment lorsqu'une désescalade ou un arrêt de traitement pourrait être envisagée.

On note que les panels ePlex-BCID® sont cliniquement pertinents (Tableaux 9-11). 199 germes sur les 214 retrouvés (93%) faisaient partie des panels. Les germes hors-panel de notre étude étaient principalement des bactéries anaérobies, isolés préférentiellement au sein d'hémocultures polymicrobiennes, qui correspondaient en majorité à des translocations digestives. La cible d'identification du genre *Staphylococcus* sp. correspondait en majorité à des situations de contaminations (5/8). En revanche, la cible d'identification du genre *Streptococcus* sp. recouvrait des situations cliniques hétérogènes : endocardites infectieuses, contaminations ou translocations digestives. Il serait intéressant de pouvoir discriminer les streptocoques fréquemment responsables d'EI (streptocoques oraux et *S. gallolyticus*) des autres par l'ajout de cibles spécifiques dans le panel GP. De plus, sachant que 30% des *S. mitis/oralis* possèdent une résistance à l'amoxicilline, il serait également intéressant de pouvoir les discriminer des autres streptocoques. On peut également regretter l'absence dans le panel d'une cible « *Enterobacteriaceae* », présente dans le panel FilmArray®, permettant de couvrir la diversité des genres et espèces bactériennes de cette vaste famille. Concernant les levures, en cas d'utilisation de ce test en zone endémique (Antilles, Guyane), l'ajout d'une cible *Histoplasma capsulatum* serait souhaitable.

Toutes les cibles des panels n'ont pas eu l'occasion d'être testées avec des échantillons cliniques, cependant nous les avons testées avec des échantillons artificiels sur lesquels elles ont toutes été détectées correctement (données non publiées).

Cette étude est, à notre connaissance, la première évaluant les bénéfices cliniques potentiels des panels ePlex-BCID®. L'impact clinique potentiel de l'obtention rapide des résultats de ce test est fort dans notre étude. Les experts ont estimé que l'antibiothérapie empiriquement introduite aurait été modifiée dans 45% des cas, ce qui est conforme avec les données de l'étude SPA-BACT quant à la proportion d'antibiothérapie inappropriée. La mise en évidence des marqueurs de résistance, avantage de la PCR multiplexe sur les autres techniques, aurait fait modifier à elle seule l'antibiothérapie dans 18% des cas. Ce chiffre doit cependant être mis en rapport avec l'épidémiologie locale des résistances.

L'absence de la PCR multiplexe a été considérée comme une perte de chance dans 27% des cas, alors qu'une décision erronée n'aurait été prise par les experts que dans 4,4% des cas. La totalité des décisions erronées conduisait à une escalade ou à une optimisation du traitement erronées, faisant courir au patient un risque moindre qu'une désescalade ou un arrêt du traitement erronés.

Il faut néanmoins souligner l'importance d'associer une équipe d'infectiologues dédiée au bon usage anti-infectieux au rendu des résultats rapides, afin d'assurer une exploitation rapide de ces résultats. Une méta-analyse récente (31 études, 5920 patients) a conclu à une diminution du risque de mortalité des bactériémies et fongémies lorsqu'une méthode de diagnostic moléculaire rapide était utilisée, mais uniquement en cas de présence d'une équipe de bon usage anti-infectieux (OR = 0.64; 95% CI = 0.51–0.79 avec équipe de bon usage *versus* OR = 0.72; 95% CI = 0.46–1.12 sans équipe de bon usage). (65) Une autre étude portant sur les résultats du test FilmArray® montrait une mauvaise interprétation de ceux-ci par les cliniciens dans 50% des cas. (102)

Nos résultats ne sont pas directement transposables à la population d'un autre établissement de santé, car ils sont dépendant de l'épidémiologie locale, et notamment de la prévalence des mécanismes de résistances présents sur le panel. Au CHU Grenoble Alpes, dans les bactériémies de l'année 2017, cette prévalence était la suivante : entérobactéries productrices de BLSE 8,8% ; BGN producteurs de

carbapénémase < 0,1% ; résistance à la vancomycine des entérocoques 1% ; résistance à la méticilline des staphylocoques dorés 7,9%. Les entérobactéries résistantes de type BLSE, représentant 19,5% des entérobactéries dans notre étude, sont donc sur-représentées en comparaison à l'épidémiologie de notre centre en 2017. Cela peut être lié à un biais d'échantillonnage (187 épisodes de bactériémies testés, sur les 1411 diagnostiqués en 2017 au CHU Grenoble Alpes). Néanmoins, dans notre étude, une escalade de l'antibiothérapie aurait été réalisée dans 78% (7/9) des cas de bactériémies à *E. coli* CTX-M, et dans 64% (9/14) des cas de bactériémies toutes entérobactéries CTX-M confondues. Cela témoigne de l'apport potentiel de cette PCR pour les sites présentant des taux de bactériémies à bactéries BLSE similaires à ceux observés dans notre centre. On peut espérer un impact clinique encore bien supérieur dans les pays où les taux de résistance aux antibiotiques sont plus élevés (par exemple : SARM et VRE aux USA ; carbapénémases en Grèce, Italie ou Inde, ...).

En plus des différences d'épidémiologie locales, les performances cliniques de ce test sont aussi soumises aux techniques diagnostiques déjà implémentées dans le laboratoire et à la chaîne d'information entre le résultat du test au laboratoire et la modification du traitement au lit du malade. Il convient donc de l'évaluer dans les conditions locales de chaque laboratoire. (101) Par exemple, son bénéfice clinique devrait être plus important dans les Centres Hospitaliers ne disposant pas de spectrométrie de masse MALDI-TOF.

Une autre source de biais est le caractère rétrospectif de l'évaluation clinique de cette étude, malgré un recueil de données le plus exhaustif possible, prenant en compte, en plus de toutes les données microbiologiques, l'anamnèse, les paramètres clinico-bio-radiologiques du patient du moment du prélèvement de l'hémoculture jusqu'à sa sortie d'hospitalisation.

Néanmoins la balance bénéfices / risques est favorable à l'utilisation de ce test pour les patients. Il fera prochainement l'objet d'une évaluation médico-économique dans un essai contrôlé randomisé.

En conclusion, la PCR multiplexe ePlex® sur flacon d'hémoculture positif permet une identification fiable des micro-organismes, y compris sur les épisodes polymicrobiens, et la mise en évidence rapide de marqueurs de résistance impactant fortement l'adaptation du traitement, permettant de réduire la mortalité. Elle nécessite un temps technicien minimal compatible avec une utilisation 24H/24, 7J/7, et un temps de formation de quelques minutes, facilitant son utilisation sur des périodes de garde. En

revanche, le nombre de germes qu'elle est capable d'identifier est limité en comparaison aux approches par MALDI-TOF. Elle est relativement coûteuse (100-150€) par rapport aux approches par MALDI-TOF, qui ne permettent en revanche pas la détection rapide des résistances. Ce coût reste néanmoins inférieur à 1% du coût global de la prise en charge d'un cas de sepsis, évalué entre 15000 et 35000 euros environ, selon la sévérité du cas et la nécessité d'une admission en réanimation du patient. (103,104) Le prix de ces tests ne doit donc pas être un argument opposable à l'utilisation de ces nouvelles stratégies diagnostiques, d'autant plus que les techniques moléculaires rapides pour le diagnostic des bactériémies et fongémies ont prouvé permettre une réduction des durées d'hospitalisation permettant un retour sur investissement supérieur aux coûts. (65)

## CONCLUSION

TITRE : EVALUATION DES PERFORMANCES MICROBIOLOGIQUES ET DE L'IMPACT CLINIQUE POTENTIEL DE LA PCR MULTIPLEXE ePlex®-BCID (GenMark Diagnostics) POUR LE DIAGNOSTIC RAPIDE DES BACTERIEMIES ET FONGEMIES - HEMOFAST I

THESE SOUTENUE PAR : SABRINA BRYANT

Malgré l'amélioration constante des techniques diagnostiques et des stratégies thérapeutiques, les bactériémies et fongémies sont des infections restant associées à une morbi-mortalité importante. L'introduction rapide d'un traitement anti-infectieux efficace est cruciale. Cependant celui-ci peut s'avérer inefficace en raison des résistances naturelles et surtout de l'augmentation de la prévalence des résistances acquises de l'espèce bactérienne ou fongique en cause. L'obtention d'une documentation microbiologique rapide permet une adaptation précoce du traitement anti-infectieux probabiliste. Elle contribue également à améliorer le bon usage des antibiotiques, afin de limiter l'utilisation de molécules à large spectre possédant une forte pression de sélection et dont certaines peuvent avoir des effets toxiques pour le patient.

Dans ce contexte, nous avons évalué la PCR multiplexe ePlex®-BCID (GenMark Diagnostics), permettant un diagnostic rapide des bactériémies et fongémies à partir d'un flacon d'hémoculture positif. Cette méthode moderne permet l'identification en 1h30, avec un temps technique très réduit (environ 5 minutes), de 56 bactéries et micromycètes (20 bactéries à Gram positif pour le panel GP, 21 bactéries à Gram négatif pour le panel GN, 15 micromycètes pour le panel FP) et de 10 marqueurs de résistance à fort impact thérapeutique.

Les performances microbiologiques d'identification et de détection des résistances bactériennes de ce test se sont révélées très satisfaisantes. Une identification fiable du genre et de l'espèce a été obtenue respectivement dans 173/187 (92,5%) et 148/187 (79%) des épisodes de bactériémies ou fongémies. En particulier, une identification fiable du genre et de l'espèce a été obtenue respectivement dans 62/66 (94%) et 44/66 (67%) des épisodes mono-microbiens à bactérie à Gram positif, dans 85/91 (93%) et 81/91 (89%) des épisodes mono-microbiens à bactérie à Gram négatif, dans 12/14 (86%) des épisodes mono-microbiens à levures et dans 14/16 (87,5%) et 11/16 (69%) des épisodes polymicrobiens.

Dans 13 épisodes/187 (7%), au moins une bactérie ou levure n'a pas été identifiée par la PCR multiplexe car elle n'était pas recherchée par les panels. Seuls 2 tests/200 (1%) ont conduit à des résultats faussement négatifs et concernaient deux bactériémies à *P. aeruginosa*.

Seuls 4 tests/200 (2%) ont conduit à des résultats faussement positifs (détection erronée d'une cible supplémentaire). Les discordances que nous avons mises en évidence ont conduit à la modification du seuil de détection de certaines cibles par le fabricant entre la



version RUO de ce test et la version actuellement commercialisée. Enfin, une concordance totale a été retrouvée pour les marqueurs de résistance recherchés par les panels avec les résultats d'antibiogrammes (gène *mecA* dans 17 souches, BLSE de type CTX-M dans 17 souches, et gène *vanA* dans 1 souche).

Les bénéfices cliniques potentiels de l'obtention rapide des résultats de ce test sont importants. L'analyse rétrospective des dossiers cliniques par un groupe d'expert a estimé que les résultats de ce test auraient permis une modification du traitement anti-infectieux chez 45% des patients, et que son absence a été une perte de chance pour les patients dans 27% des cas. Une décision erronée de traitement aurait été prise dans 4,4% des cas, dont certaines auraient pu être évitées par le réexamen microscopique de l'hémoculture.

En comparaison aux alternatives existantes à ce jour, les avantages de cette technique sont son panel de germes, plus large que celui des autres PCR multiplexes disponibles ; la recherche de marqueurs de résistance cliniquement pertinents, son temps technique réduit et ses performances intéressantes sur les épisodes polymicrobiens, par comparaison aux techniques rapides en spectrométrie de masse MALDI-TOF.

En conclusion, le test rapide ePlex®-BCID semble être un test performant et utile pour accélérer le diagnostic et l'optimisation thérapeutique des bactériémies et des fongémies.

Ces données seront complétées par l'évaluation prospective médico-économique de ce nouveau test diagnostique.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 21/01/19

Le Doyen



Pr. Patrice MORAND

Pour le Président  
et par délégation  
Le Doyen de Médecine  
Pr. Patrice MORAND

20/01/19

Le Président du Jury



Pr. Olivier EPAULARD

## BIBLIOGRAPHIE

1. Christaki E, Giamarellou-Bourboulis EJ. The complex pathogenesis of bacteremia. *Virulence*. 1 janv 2014;5(1):57-65.
2. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. juin 2013;19(6):501-9.
3. Søgaard M, Nørgaard M, Dethlefsen C, Schönheyder HC. Temporal changes in the incidence and 30-day mortality associated with bacteremia in hospitalized patients from 1992 through 2006: a population-based cohort study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 janv 2011;52(1):61-9.
4. Vrijens F, Hulstaert F, Van de Sande S, Devriese S, Morales I, Parmentier Y. Hospital-acquired, laboratory-confirmed bloodstream infections: linking national surveillance data to clinical and financial hospital data to estimate increased length of stay and healthcare costs. *J Hosp Infect*. juill 2010;75(3):158-62.
5. Schmid A, Pugin J, Chevrolet J-C, Marsch S, Ludwig S, Stocker R, et al. Burden of illness imposed by severe sepsis in Switzerland. *Swiss Med Wkly*. 21 févr 2004;134(7-8):97-102.
6. Yahav D, Eliakim-Raz N, Leibovici L, Paul M. Bloodstream infections in older patients. *Virulence*. 18 déc 2015;7(3):341-52.
7. Ombelet S, Barbé B, Affolabi D, Ronat J-B, Lompo P, Lunguya O, et al. Best Practices of Blood Cultures in Low- and Middle-Income Countries. *Front Med*. 2019;6:131.
8. Dougle ML, Hendriks ER, Sanders EJ, Dorigo-Zetsma JW. Laboratory investigations in the diagnosis of septicaemia and malaria. *East Afr Med J*. juin 1997;74(6):353-6.
9. Prasad N, Murdoch DR, Reyburn H, Crump JA. Etiology of Severe Febrile Illness in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review. *PloS One*. 2015;10(6):e0127962.
10. Howell MD, Davis AM. Management of Sepsis and Septic Shock. *JAMA*. 28 févr 2017;317(8):847-8.
11. Robineau O, Robert J, Rabaud C, Bedos J-P, Varon E, Péan Y, et al. Management and outcome of bloodstream infections: a prospective survey in 121 French hospitals (SPA-BACT survey). *Infect Drug Resist*. 2018;11:1359-68.
12. Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Sci Transl Med*. 19 déc 2012;4(165):165rv13-165rv13.
13. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. *N Engl J Med*. 8 oct 2015;373(15):1445-56.

14. Rapports d'activité du CNR des Mycoses invasives et antifongiques [Internet]. Institut Pasteur. 2016 [cité 29 sept 2019]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/mycoses-invasives-antifongiques/rapports-d-activite>
15. Bitar D, Lortholary O, Le Strat Y, Nicolau J, Coignard B, Tattevin P, et al. Population-based analysis of invasive fungal infections, France, 2001-2010. *Emerg Infect Dis*. juill 2014;20(7):1149-55.
16. Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, Madec Y, Denoeud-Ndam L, Wolff M, et al. Worrying trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002-2010). *Intensive Care Med*. sept 2014;40(9):1303-12.
17. Dempsey C, Skoglund E, Muldrew KL, Garey KW. Economic health care costs of blood culture contamination: A systematic review. *Am J Infect Control*. août 2019;47(8):963-7.
18. Klein Klouwenberg PMC, Cremer OL, van Vught LA, Ong DSY, Frencken JF, Schultz MJ, et al. Likelihood of infection in patients with presumed sepsis at the time of intensive care unit admission: a cohort study. *Crit Care Lond Engl*. 7 sept 2015;19:319.
19. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 23 févr 2016;315(8):801-10.
20. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on « sepsis-related problems » of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med*. nov 1998;26(11):1793-800.
21. Raith EP, Udy AA, Bailey M, McGloughlin S, MacIsaac C, Bellomo R, et al. Prognostic Accuracy of the SOFA Score, SIRS Criteria, and qSOFA Score for In-Hospital Mortality Among Adults With Suspected Infection Admitted to the Intensive Care Unit. *JAMA*. 17 2017;317(3):290-300.
22. Jiang J, Yang J, Mei J, Jin Y, Lu Y. Head-to-head comparison of qSOFA and SIRS criteria in predicting the mortality of infected patients in the emergency department: a meta-analysis. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 11 juill 2018;26(1):56.
23. Poses RM, Anthony M. Availability, wishful thinking, and physicians' diagnostic judgments for patients with suspected bacteremia. *Med Decis Mak Int J Soc Med Decis Mak*. sept 1991;11(3):159-68.
24. Jones GR, Lowes JA. The systemic inflammatory response syndrome as a predictor of bacteraemia and outcome from sepsis. *QJM Mon J Assoc Physicians*. juill 1996;89(7):515-22.
25. Shapiro NI, Wolfe RE, Wright SB, Moore R, Bates DW. Who needs a blood culture? A prospectively derived and validated prediction rule. *J Emerg Med*. oct 2008;35(3):255-64.

26. Jessen MK, Mackenhauer J, Hvass AMSW, Ellermann-Eriksen S, Skibsted S, Kirkegaard H, et al. Prediction of bacteremia in the emergency department: an external validation of a clinical decision rule. *Eur J Emerg Med Off J Eur Soc Emerg Med*. févr 2016;23(1):44-9.
27. Coburn B, Morris AM, Tomlinson G, Detsky AS. Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures? *JAMA*. 1 août 2012;308(5):502-11.
28. Yagupsky P, Nolte FS. Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev*. juill 1990;3(3):269-79.
29. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. juin 2013;19(6):513-20.
30. Zheng S, Ng TY, Li H, Tan AL, Tan TT, Tan BH. A dedicated fungal culture medium is useful in the diagnosis of fungemia: a retrospective cross-sectional study. *PloS One*. 2016;11(10):e0164668.
31. Afshari A, Schrenzel J, Ieven M, Harbarth S. Bench-to-bedside review: Rapid molecular diagnostics for bloodstream infection - a new frontier? *Crit Care*. 2012;16(3):222.
32. Vitrat-Hincky V, François P, Labarère J, Recule C, Stahl JP, Pavese P. Appropriateness of blood culture testing parameters in routine practice. Results from a cross-sectional study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. avr 2011;30(4):533-9.
33. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, et al. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* organisms: a retrospective multicenter evaluation. *J Clin Microbiol*. janv 2006;44(1):257-9.
34. Fenollar F, Raoult D. Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. nov 2007;30 Suppl 1:S7-15.
35. Zadroga R, Williams DN, Gottschall R, Hanson K, Nordberg V, Deike M, et al. Comparison of 2 Blood Culture Media Shows Significant Differences in Bacterial Recovery for Patients on Antimicrobial Therapy. *Clin Infect Dis*. 15 mars 2013;56(6):790-7.
36. La Scola B. Intact cell MALDI-TOF mass spectrometry-based approaches for the diagnosis of bloodstream infections. *Expert Rev Mol Diagn*. avr 2011;11(3):287-98.
37. Patel TS, Kaakeh R, Nagel JL, Newton DW, Stevenson JG. Cost Analysis of Implementing Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Plus Real-Time Antimicrobial Stewardship Intervention for Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol*. janv 2017;55(1):60-7.
38. Dannaoui E, Abdul M, Arpin M, Michel-Nguyen A, Piens MA, Favel A, et al. Results obtained with various antifungal susceptibility testing methods do not predict early clinical outcome in patients with cryptococcosis. *Antimicrob Agents Chemother*. juill 2006;50(7):2464-70.

39. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. févr 2010;50(3):291-322.
40. Lanternier F. Prise en charge des fongémies. 2017;69.
41. Bailly S, Garnaud C, Cornet M, Pavese P, Hamidfar-Roy R, Foroni L, et al. Impact of systemic antifungal therapy on the detection of *Candida* species in blood cultures in clinical cases of candidemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. juin 2016;35(6):1023-32.
42. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis*. févr 1983;5(1):35-53.
43. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. juin 2006;34(6):1589-96.
44. Ferrer R, Martin-Loeches I, Phillips G, Osborn TM, Townsend S, Dellinger RP, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program. *Crit Care Med*. août 2014;42(8):1749-55.
45. Hranjec T, Rosenberger LH, Swenson B, Metzger R, Flohr TR, Politano AD, et al. Aggressive versus conservative initiation of antimicrobial treatment in critically ill surgical patients with suspected intensive-care-unit-acquired infection: a quasi-experimental, before and after observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. oct 2012;12(10):774-80.
46. Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, Desnos-Ollivier M, Bretagne S, Dromer F. The risk and clinical outcome of candidemia depending on underlying malignancy. *Intensive Care Med*. 2017;43(5):652-62.
47. Marquet K, Liesenborgs A, Bergs J, Vleugels A, Claes N. Incidence and outcome of inappropriate in-hospital empiric antibiotics for severe infection: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2015;19(1):63.
48. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiol Read Engl*. nov 2010;156(Pt 11):3216-23.
49. Willemsen I, Bogaers-Hofman D, Winters M, Kluytmans J. Correlation between antibiotic use and resistance in a hospital: temporary and ward-specific observations. *Infection*. oct 2009;37(5):432-7.
50. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis*. 15 avr 2008;197(8):1079-81.
51. Stewardson AJ, Allignol A, Beyersmann J, Graves N, Schumacher M, Meyer R, et al. The health and economic burden of bloodstream infections caused by

- antimicrobial-susceptible and non-susceptible Enterobacteriaceae and Staphylococcus aureus in European hospitals, 2010 and 2011: a multicentre retrospective cohort study. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull.* 18 août 2016;21(33).
52. de Kraker MEA, Davey PG, Grundmann H, BURDEN study group. Mortality and hospital stay associated with resistant Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS Med.* oct 2011;8(10):e1001104.
  53. Bartlett JG. A Call to Arms: The Imperative for Antimicrobial Stewardship. *Clin Infect Dis.* 15 août 2011;53(suppl\_1):S4-7.
  54. Tabah A, Cotta MO, Garnacho-Montero J, Schouten J, Roberts JA, Lipman J, et al. A Systematic Review of the Definitions, Determinants, and Clinical Outcomes of Antimicrobial De-escalation in the Intensive Care Unit. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 avr 2016;62(8):1009-17.
  55. Shime N, Satake S, Fujita N. De-escalation of antimicrobials in the treatment of bacteraemia due to antibiotic-sensitive pathogens in immunocompetent patients. *Infection.* août 2011;39(4):319-25.
  56. Shime N, Kosaka T, Fujita N. De-escalation of antimicrobial therapy for bacteraemia due to difficult-to-treat Gram-negative bacilli. *Infection.* févr 2013;41(1):203-10.
  57. Lee C-C, Wang J-L, Lee C-H, Hung Y-P, Hong M-Y, Tang H-J, et al. Clinical benefits of antimicrobial de-escalation in adults with community-onset monomicrobial Escherichia coli, Klebsiella species and Proteus mirabilis bacteremia. *Int J Antimicrob Agents.* sept 2017;50(3):371-6.
  58. Lee C-C, Lee N-Y, Chen P-L, Hong M-Y, Chan T-Y, Chi C-H, et al. Impact of antimicrobial strategies on clinical outcomes of adults with septic shock and community-onset Enterobacteriaceae bacteremia: de-escalation is beneficial. *Diagn Microbiol Infect Dis.* juin 2015;82(2):158-64.
  59. Garnacho-Montero J, Díaz-Martín A, Cantón-Bulnes L, Ramírez P, Sierra R, Arias-Verdú D, et al. Initial Antifungal Strategy Reduces Mortality in Critically Ill Patients With Candidemia: A Propensity Score-Adjusted Analysis of a Multicenter Study. *Crit Care Med.* 2018;46(3):384-93.
  60. Seddon MM, Bookstaver PB, Justo JA, Kohn J, Rac H, Haggard E, et al. Role of Early De-escalation of Antimicrobial Therapy on Risk of Clostridioides difficile Infection following Enterobacteriaceae Bloodstream Infections. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 12 oct 2018;
  61. López-Cortés LE, Rosso-Fernández C, Núñez-Núñez M, Lavín-Alconero L, Bravo-Ferrer J, Barriga Á, et al. Targeted simplification versus antipseudomonal broad-spectrum beta-lactams in patients with bloodstream infections due to Enterobacteriaceae (SIMPLIFY): a study protocol for a multicentre, open-label, phase III randomised, controlled, non-inferiority clinical trial. *BMJ Open.* 09 2017;7(6):e015439.

62. Plachouras D, Kärki T, Hansen S, Hopkins S, Lyytikäinen O, Moro ML, et al. Antimicrobial use in European acute care hospitals: results from the second point prevalence survey (PPS) of healthcare-associated infections and antimicrobial use, 2016 to 2017. *Eurosurveillance*. 15 nov 2018;23(46):1800393.
63. Ostrosky-Zeichner L, Casadevall A, Galgiani JN, Odds FC, Rex JH. An insight into the antifungal pipeline: selected new molecules and beyond. *Nat Rev Drug Discov*. sept 2010;9(9):719-27.
64. Buehler SS, Madison B, Snyder SR, Derzon JH, Cornish NE, Saubolle MA, et al. Effectiveness of Practices To Increase Timeliness of Providing Targeted Therapy for Inpatients with Bloodstream Infections: a Laboratory Medicine Best Practices Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Microbiol Rev*. janv 2016;29(1):59-103.
65. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 janv 2017;64(1):15-23.
66. Korber F, Zeller I, Grünstäudl M, Willinger B, Apfalter P, Hirschl AM, et al. SeptiFast versus blood culture in clinical routine - A report on 3 years experience. *Wien Klin Wochenschr*. juin 2017;129(11-12):427-34.
67. Straub J, Paula H, Mayr M, Kasper D, Assadian O, Berger A, et al. Diagnostic accuracy of the ROCHE Septifast PCR system for the rapid detection of blood pathogens in neonatal sepsis-A prospective clinical trial. *PloS One*. 2017;12(11):e0187688.
68. Parize P, Muth E, Richaud C, Gratigny M, Pilmis B, Lamamy A, et al. Untargeted next-generation sequencing-based first-line diagnosis of infection in immunocompromised adults: a multicentre, blinded, prospective study. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. août 2017;23(8):574.e1-574.e6.
69. Watanabe N, Kryukov K, Nakagawa S, Takeuchi JS, Takeshita M, Kirimura Y, et al. Detection of pathogenic bacteria in the blood from sepsis patients using 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis. *PloS One*. 2018;13(8):e0202049.
70. Ruiz-Aragón J, Ballester-Téllez M, Gutiérrez-Gutiérrez B, de Cueto M, Rodríguez-Baño J, Pascual Á. Direct bacterial identification from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry: A systematic review and meta-analysis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;36(8):484-92.
71. Idelevich EA, Schüle I, Grünastel B, Wüllenweber J, Peters G, Becker K. Rapid identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry subsequent to very short-term incubation on solid medium. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. oct 2014;20(10):1001-6.
72. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*. oct 2005;18(4):657-86.

73. Forrest GN, Roghmann M-C, Toombs LS, Johnson JK, Weekes E, Lincalis DP, et al. Peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization for hospital-acquired enterococcal bacteremia: delivering earlier effective antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* oct 2008;52(10):3558-63.
74. Charnot-Katsikas A, Tesic V, Love N, Hill B, Bethel C, Boonlayangoor S, et al. Use of the Accelerate Pheno System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Pathogens in Positive Blood Cultures and Impact on Time to Results and Workflow. *J Clin Microbiol.* 2018;56(1).
75. Lutgring JD, Bittencourt C, McElvania TeKippe E, Cavuoti D, Hollaway R, Burd EM. Evaluation of the Accelerate Pheno System: Results from Two Academic Medical Centers. *J Clin Microbiol [Internet].* 26 mars 2018 [cité 7 oct 2019];56(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5869849/>
76. Descours G, Desmurs L, Hoang TLT, Ibranosyan M, Baume M, Ranc A-G, et al. Evaluation of the Accelerate Pheno™ system for rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-negative bacteria in bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* août 2018;37(8):1573-83.
77. Kim J-S, Kang G-E, Kim H-S, Kim HS, Song W, Lee KM. Evaluation of Verigene Blood Culture Test Systems for Rapid Identification of Positive Blood Cultures. *BioMed Res Int [Internet].* 2016 [cité 3 sept 2019];2016. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4745370/>
78. Wojewoda CM, Sercia L, Navas M, Tuohy M, Wilson D, Hall GS, et al. Evaluation of the Verigene Gram-Positive Blood Culture Nucleic Acid Test for Rapid Detection of Bacteria and Resistance Determinants. *J Clin Microbiol.* juill 2013;51(7):2072-6.
79. Warhurst G, Dunn G, Chadwick P, Blackwood B, McAuley D, Perkins GD, et al. Rapid detection of health-care-associated bloodstream infection in critical care using multipathogen real-time polymerase chain reaction technology: a diagnostic accuracy study and systematic review. *Health Technol Assess Winch Engl.* mai 2015;19(35):1-142.
80. Carrara L, Navarro F, Turbau M, Seres M, Morán I, Quintana I, et al. Molecular diagnosis of bloodstream infections with a new dual-priming oligonucleotide-based multiplex PCR assay. *J Med Microbiol.* nov 2013;62(Pt 11):1673-9.
81. Ziegler I, Fagerström A, Strålin K, Mölling P. Evaluation of a Commercial Multiplex PCR Assay for Detection of Pathogen DNA in Blood from Patients with Suspected Sepsis. *PloS One.* 2016;11(12):e0167883.
82. Huang T-D, Melnik E, Bogaerts P, Evrard S, Glupczynski Y. Evaluation of the ePlex Blood Culture Identification Panels for Detection of Pathogens in Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol [Internet].* 30 janv 2019 [cité 29 juill 2019];57(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6355516/>
83. Deck MK, Anderson ES, Buckner RJ, Colasante G, Coull JM, Crystal B, et al. Multicenter evaluation of the Staphylococcus QuickFISH method for simultaneous identification of Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci



- directly from blood culture bottles in less than 30 minutes. *J Clin Microbiol.* juin 2012;50(6):1994-8.
84. Oliveira K, Procop GW, Wilson D, Coull J, Stender H. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* directly from blood cultures by fluorescence in situ hybridization with peptide nucleic acid probes. *J Clin Microbiol.* janv 2002;40(1):247-51.
  85. Parcell BJ, Orange GV. PNA-FISH assays for early targeted bacteraemia treatment. *J Microbiol Methods.* nov 2013;95(2):253-5.
  86. Morgan MA, Marlowe E, Novak-Weekly S, Miller JM, Painter TM, Salimnia H, et al. A 1.5 hour procedure for identification of *Enterococcus* Species directly from blood cultures. *J Vis Exp JoVE.* 10 févr 2011;(48).
  87. Forrest GN, Mankes K, Jabra-Rizk MA, Weekes E, Johnson JK, Lincalis DP, et al. Peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization-based identification of *Candida albicans* and its impact on mortality and antifungal therapy costs. *J Clin Microbiol.* sept 2006;44(9):3381-3.
  88. Shepard JR, Addison RM, Alexander BD, Della-Latta P, Gherna M, Haase G, et al. Multicenter evaluation of the *Candida albicans/Candida glabrata* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization method for simultaneous dual-color identification of *C. albicans* and *C. glabrata* directly from blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* janv 2008;46(1):50-5.
  89. Hall L, Le Febre KM, Deml SM, Wohlfel SL, Wengenack NL. Evaluation of the Yeast Traffic Light PNA FISH Probes for Identification of *Candida* Species from Positive Blood Cultures. *J Clin Microbiol.* 1 avr 2012;50(4):1446-8.
  90. Salimnia H, Fairfax MR, Lephart PR, Schreckenberger P, DesJarlais SM, Johnson JK, et al. Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification Panel: Results of a Multicenter Controlled Trial. *J Clin Microbiol.* mars 2016;54(3):687-98.
  91. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Ozenci V. Clinical evaluation of the FilmArray blood culture identification panel in identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* déc 2013;51(12):4130-6.
  92. Wilmshurst P. The regulation of medical devices. *BMJ.* 13 mai 2011;342:d2822.
  93. Cohen D, Billingsley M. Europeans are left to their own devices. *BMJ.* 13 mai 2011;342:d2748.
  94. Bossuyt PM, Reitsma JB, Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy. The STARD initiative. *Lancet Lond Engl.* 4 janv 2003;361(9351):71.
  95. Robin F, Beyrouthy R, Bonacorsi S, Aissa N, Bret L, Brieu N, et al. Inventory of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in France as Assessed by a Multicenter Study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(3).
  96. CNR résistance aux antibiotiques - Bilans d'activité [Internet]. [cité 9 oct 2019]. Disponible sur: <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/bilans-dactivite.html>
  97. Lortholary O, Desnos-Ollivier M, Sitbon K, Fontanet A, Bretagne S, Dromer F. Recent Exposure to Caspofungin or Fluconazole Influences the Epidemiology of

Candidemia: a Prospective Multicenter Study Involving 2,441 Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* févr 2011;55(2):532-8.

98. Maubon D, Dard C, Garnaud C, Cornet M. Profile of GenMark's ePlex® blood culture identification fungal pathogen panel. *Expert Rev Mol Diagn.* 2018;18(2):119-32.
99. Byrnes EJ, Li W, Lewit Y, Ma H, Voelz K, Ren P, et al. Emergence and pathogenicity of highly virulent *Cryptococcus gattii* genotypes in the northwest United States. *PLoS Pathog.* 22 avr 2010;6(4):e1000850.
100. Ny P, Ozaki A, Pallares J, Nieberg P, Wong-Beringer A. Antimicrobial Stewardship Opportunities in Patients with Bacteremia Not Identified by BioFire FilmArray. *J Clin Microbiol.* mai 2019;57(5).
101. Banerjee R, Özenci V, Patel R. Individualized Approaches Are Needed for Optimized Blood Cultures. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 nov 2016;63(10):1332-9.
102. Donner LM, Campbell WS, Lyden E, Van Schooneveld TC. Assessment of Rapid-Blood-Culture-Identification Result Interpretation and Antibiotic Prescribing Practices. *J Clin Microbiol.* 2017;55(5):1496-507.
103. Paoli CJ, Reynolds MA, Sinha M, Gitlin M, Crouser E. Epidemiology and Costs of Sepsis in the United States-An Analysis Based on Timing of Diagnosis and Severity Level. *Crit Care Med.* 2018;46(12):1889-97.
104. Arefian H, Heublein S, Scherag A, Brunkhorst FM, Younis MZ, Moerer O, et al. Hospital-related cost of sepsis: A systematic review. *J Infect.* 2017;74(2):107-17.

# ANNEXE

## Annexe 1 : Contenu de l'eCRF

HEMOFAST		PATIENT
<a href="#">Accueil</a>   <a href="#">Déconnexion</a> <a href="#">Patient</a>   <a href="#">Antibiothérapie j...</a>   <a href="#">Examen clinique</a>   <a href="#">Paramètres Biolog...</a>   <a href="#">Informations clin...</a>   <a href="#">Imagerie et anamn...</a>   <a href="#">Ventilation mécan...</a> <a href="#">Signes extra thor...</a>   <a href="#">Résultat micro-bi...</a>   <a href="#">Autres prélèvemen...</a>   <a href="#">Antibiothérapie J...</a>   <a href="#">Synthèse séjour</a>		
PATIENT		
IDENTIFICATION DU PATIENT		
Numéro de patient	<input type="text"/>	
Initiales patients	<input type="text"/>	
Date de naissance	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> (jj/mm/aaaa)	
Sexe	<input type="text"/>	
Poids de l'entrée	<input type="text"/>	
Taille	<input type="text"/>	
Voyage hors métropole dans les 3 derniers mois	<input type="text"/>	
Date de l'hospitalisation initiale	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> (jj/mm/aaaa)	
Service clinique au moment de la positivité de l'hémoculture	<input type="text"/>	
ANTECEDENTS MEDICAUX ET CHIRURGICAUX		
Antécédents médicaux et chirurgicaux	<input type="text" value="Oui"/>	
CARDIOVASCULAIRE		
	Oui	Non
Insuffisance cardiaque	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
HTA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Coronaropathie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
RESPIRATOIRE		
	Oui	Non
BPCO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Tuberculose (séquelle)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Asthme	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
HEPATIQUE		
	Oui	Non
Hépatite B ou C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Cirrhose prouvée	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
RENALE		
	Oui	Non
Insuffisance rénale chronique	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hémodialyse	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Dialyse péritonéale	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
TRANSPLANTATION		
	Oui	Non
Transplantation organe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
MALADIES IMMUNITAIRE		
	Oui	Non
Polyarthrite rhumatoïde	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lupus	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Autre	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
AUTRE		
Si Autre	<input type="text" value="Oui"/>	
Autre	<input type="text"/>	
Autre	<input type="text"/>	
ANTIBIOTHERAPIE J-15		
ATB/ANTIFONGIQUES J-15 (j1 hémoculture positive)	<input type="text"/>	

EXAMEN CLINIQUE	
<b>Le jour du prélèvement de l'hémoculture</b>	
<b>Valeur la plus basse/24h</b>	
Température	<input type="text"/>
PAS	<input type="text"/>
PAD	<input type="text"/>
Fréquence cardiaque	<input type="text"/>
Diurèse des 24 dernières heures	<input type="text"/>
Glasgow Coma Score	<input type="text"/>
<b>Valeur la plus haute/24h</b>	
Température	<input type="text"/>
PAS	<input type="text"/>
PAD	<input type="text"/>
Fréquence cardiaque	<input type="text"/>
Diurèse des 24 dernières heures	<input type="text"/>
Glasgow Coma Score	<input type="text"/>

PARAMÈTRES BIOLOGIQUES	
<b>Le jour du prélèvement de l'hémoculture</b>	
<b>Valeur la plus basse/24h</b>	
CRP (mg/l)	<input type="text"/>
Leucocytes G/l	<input type="text"/>
Créatinine (µmol/l)	<input type="text"/>
Lactates (mmol/l)	<input type="text"/>
PCT (UI)	<input type="text"/>
<b>Valeur la plus haute/24h</b>	
CRP (mg/l)	<input type="text"/>
Leucocytes G/l	<input type="text"/>
Créatinine (µmol/l)	<input type="text"/>
Lactates (mmol/l)	<input type="text"/>
PCT (UI)	<input type="text"/>

INFORMATIONS CLINIQUES/BIOLOGIQUES			
Ayant participé à la réalisation d'hémocultures			
	Oui	Non	Ø
<b>A) Patient immunodéprimé *</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>B) Sepsis (au moins un des critères suivants) *</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
Fièvre > 38.2°C ou hypothermie <36°C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
FC > 120 min	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
PA < 120 mmHg (ou diminution de 50 mmHg des chiffres de base)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
F respiratoire > 30/min	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Confusion	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hyperleucocytose (>12 G/l)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Leucopénie (<4 G/l)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
C Reactive Protein > 40	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Procalcitonine > 0.5 mg/L	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>C) Avec ou sans dysfonction d'organes définie comme suit : *</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
hypoxie (PaO2/FiO2 < 300 mmHg)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
oligurie (débit urinaire < 0.5 ml/kg/h chez malade sondé)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Créatinine > 200 µmol/l	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
INR > 1.5 ou TCA > 2 X témoin en l'absence de traitement anticoagulant	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Plaquettes < 100 G/L	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Bilirubine > 35 µmol/l	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lactatémie > 2 mmol/l	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hypotension artérielle (PAS < 90 mmHg, ou PAM < 70 mmHg ou diminution de plus de 40 mmHg si hypertension connue)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

IMAGERIE ET ANAMNÈSE RESPIRATOIRE	
<b>RADIOGRAPHIE DU THORAX</b>	
Radiographie Thorax	<input type="text"/>
<b>ANAMNESE RESPIRATOIRE</b>	
Au moment du prélèvement de l'hémoculture le patient a-t-il eu des symptômes respiratoires?	<input type="text"/>

VENTILATION MÉCANIQUE ET AMINES	
<b>Le jour du prélèvement de l'hémoculture</b>	
<b>Ventilation mécanique</b>	
Ventilation non invasive	<input type="text"/>
Ventilation invasive	<input type="text"/>
<b>Administration Amines</b>	
Administration Amines	<input type="text"/>

SIGNES EXTRA THORACIQUES	
<b>Le jour du prélèvement de l'hémoculture</b>	
Hémodynamique	<input type="text"/>
Rénale	<input type="text"/>
Hémorragique (non pulmonaire)	<input type="text"/>
Neurologique	<input type="text"/>
Céphalée	<input type="text"/>
Epilepsie	<input type="text"/>
Focalisation	<input type="text"/>
Fonctions supérieures	<input type="text"/>
Cutanée	<input type="text"/>
Digestive	<input type="text"/>
Diarrhée	<input type="text"/>
Vomissement	<input type="text"/>
Occlusion	<input type="text"/>
Hépatique	<input type="text"/>
Ostéoarticulaire	<input type="text"/>
Cathéter(1)	<input type="text"/>
Cathéter(2)	<input type="text"/>
Autre localisation 1	<input type="text"/>
Autre localisation 2	<input type="text"/>
Autre localisation 3	<input type="text"/>

RÉSULTAT MICRO-BIOLOGIQUE	
Numéro Synergie (HEMMYC)	<input type="text"/>
<b>Résultat de l'examen direct réalisé à partir du flacon positif</b>	
Résultat de l'examen direct réalisé à partir du flacon positif. Micro-organisme N°1	<input type="text"/>
Résultat de l'examen direct réalisé à partir du flacon positif. Micro-organisme N°2	<input type="text"/>
Résultat de l'examen direct réalisé à partir du flacon positif. Micro-organisme N°3	<input type="text"/>
<b>Bactéries/Levures identifiées par PCR multiplexe</b>	
Bactéries/Levures identifiées par PCR multiplexe : Micro-organisme N°1	<input type="text"/>
Résistance(s) identifiée(s) par PCR multiplexe : Micro-organisme N°1	<input type="text"/>
Bactéries/Levures identifiées par PCR multiplexe : Micro-organisme N°2	<input type="text"/>
Résistance(s) identifiée(s) par PCR multiplexe : Micro-organisme N°2	<input type="text"/>
Bactéries/Levures identifiées par PCR multiplexe : Micro-organisme N°3	<input type="text"/>
Résistance(s) identifiée(s) par PCR multiplexe : Micro-organisme N°3	<input type="text"/>
<b>Bactérie(s)/Levure(s) identifiée(s) en culture</b>	
Bactérie(s)/Levure(s) identifiée(s) en culture: Micro-organisme N°1	<input type="text"/>
Résistance(s) identifiée(s) en culture: Micro-organisme N°1	<input type="text"/>
Bactérie(s)/Levure(s) identifiée(s) en culture: Micro-organisme N°2	<input type="text"/>
Résistance(s) identifiée(s) en culture: Micro-organisme N°2	<input type="text"/>
Bactérie(s)/Levure(s) identifiée(s) en culture: Micro-organisme N°3	<input type="text"/>
Résistance(s) identifiée(s) en culture: Micro-organisme N°3	<input type="text"/>

AUTRES PRÉLÈVEMENTS POSITIFS	
Autres prélèvements positifs entre 48h avant le prélèvement et jusqu'à 5 jours après	<input type="text" value="Oui"/>
Autres prélèvements positifs entre 48h avant le prélèvement et jusqu'à 5 jours après (Joindre antibiogramme) 1	<input type="text"/>
Date	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> (jj/mm/aaaa)
Bactérie(s)/ Levure(s)/Virus identifié(s)	<input type="text"/>
Bactérie(s)/ Levure(s)/Virus identifié(s): résistance	<input type="text"/>
Autres prélèvements positifs entre 48h avant le prélèvement et jusqu'à 5 jours après (Joindre antibiogramme) 2	<input type="text"/>
Date	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> (jj/mm/aaaa)
Bactérie(s)/ Levure(s)/Virus identifié(s)	<input type="text"/>
Bactérie(s)/ Levure(s)/Virus identifié(s): résistance	<input type="text"/>
Autres prélèvements positifs entre 48h avant le prélèvement et jusqu'à 5 jours après (Joindre antibiogramme) 3	<input type="text"/>
date	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> (jj/mm/aaaa)
Bactérie(s)/ Levure(s)/Virus identifié(s)	<input type="text"/>
Bactérie(s)/ Levure(s)/Virus identifié(s): résistance	<input type="text"/>

ANTIBIOTHÉRAPIE J1 (J1= J HÉMOCULTURE POSITIVE)	
Molécules 1	<input type="text"/>
Heure de début	<input type="text"/>
Molécules 2	<input type="text"/>
Heure de début	<input type="text"/>
Molécules 3	<input type="text"/>
Heure de début	<input type="text"/>
Molécules 4	<input type="text"/>
Heure de début	<input type="text"/>
Molécules 5	<input type="text"/>
Heure de début	<input type="text"/>
Molécules 6	<input type="text"/>
Heure de début	<input type="text"/>

SYNTHÈSE SÉJOUR	
<b>Evolution/ Evénement intercurrent (en clair)</b>	
<b>Hospitalisation/sortie</b>	
Date de fin d'hospitalisation au CHU	<input type="text"/> (jj/mm/aaaa)
Modification du lieu de mode de vie	<input type="text"/>
<b>Décès</b>	
Patient décédé	<input type="text"/>
<b>Diagnostic retenu dans le service</b>	
Organe infecté	<input type="text"/>
Microbiologie	<input type="text"/>
Autre	<input type="text"/>
si autre commentaire	<input type="text"/>
Diagnostic retenu	<input type="text"/>

Expertise

**EXPERTISE**

**Diagnostic retenu par les experts**

Numéro de patient

Patient incluable

Sepsis

Contamination prouvée?

Organe infecté

Microbiologie

Autre

Diagnostic retenu

Date ATB optimisée     (jj/mm/aaaa)

Heure ATB optimisée

Date PCR positive     (jj/mm/aaaa)

Heure PCR positive

**En ce qui concerne les résultats de la PCR multiplexe**

Le résultat de l'identification bactérienne seule aurait-il conduit à une modification du traitement antibiotique du patient ?

Le résultat des marqueurs de résistance aurait-il conduit à une modification du traitement antibiotique du patient ?

Le résultat de la PCR multiplex vous aurait-t-il conduit à une décision erronée ?

Le résultat de la PCR multiplex couplé au résultat de l'examen direct vous aurait-t-il conduit à une décision erronée ?

D'après vous, l'absence de PCR multiplex a été une perte de chance ?

Le résultat de la PCR aurait-t-il eu un impact sur votre prise en charge du patient (hors traitement antibiotique)



## Annexe 2 : Formulaire aux experts

PATIENT #
-----------

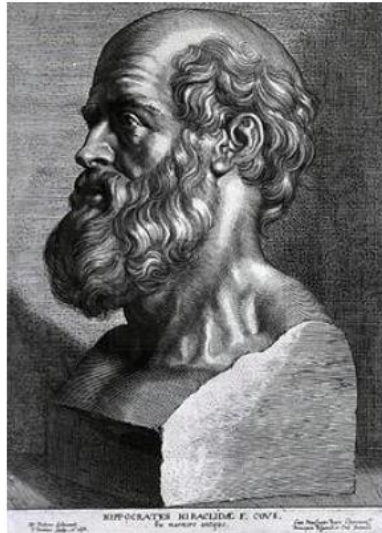
### Diagnostic retenu par les experts

Sepsis	DOCUMENTÉ / NON DOCUMENTÉ
Contamination prouvée?	OUI / NON
Organe infecté	URINAIRE / POUMON / DIGESTIF / SNC / HÉPATOBIILAIRE / PEAU / KT / IOA / SITE OPÉRATOIRE / AUTRE / NSP
Microbiologie	BACTERIO / VIRO / MYCO / PARASITO / NON INFECTIEUX
Diagnostic retenu	

Autres commentaires :

### En ce qui concerne les résultats de la PCR multiplexe

Le résultat de l'identification bactérienne/fongique seule aurait-il conduit à une modification du traitement antibiotique/antifongique du patient ?	OPTIMISATION / ESCALADE / DÉSESCALADE / ARRÊT / NON
Le résultat des marqueurs de résistance aurait-il conduit à une modification du traitement antibiotique du patient ?	OPTIMISATION / ESCALADE / DÉSESCALADE / ARRÊT / NON / NON APPLICABLE
Le résultat de la PCR multiplex vous aurait-t-il conduit à une décision erronée ?	OUI / PROBABLEMENT / PROBABLEMENT PAS / NON
Le résultat de la PCR multiplex couplé au résultat de l'examen direct vous aurait-t-il conduit à une décision erronée ?	OUI / PROBABLEMENT / PROBABLEMENT PAS / NON
D'après vous, l'absence de PCR multiplex a été une perte de chance ?	OUI / PROBABLEMENT / PROBABLEMENT PAS / NON
Le résultat de la PCR aurait-t-il eu un impact sur votre prise en charge du patient (hors traitement antibiotique) ?	OUI / PROBABLEMENT / PROBABLEMENT PAS / NON



## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

*En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,*

*Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.*

*Je donnerai mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.*

*Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

*Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.*

*Je garderai le respect absolu de la vie humaine.*

*Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.*

*Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*

